

Kandidaatintutkielma

”Käenpesä”:
Mikroympäristön merkityksestä rintasyövän
luumetastaasien muodostumisessa

Pipsa Pajarinen

*”Of two sisters
one is always the watcher,
one the dancer.”*

– Louise Glück, *Tango*

Käytetyt lyhenteet

BLC	luuta rajaava solu
BMP	Bone Morphogenic Protein
BRU	luun uudelleenmuokkausyksikkö (myös BRC)
BSP	luun sialoproteiini
CAF	syöpäliitännäinen fibroblasti
CAM	Cell Adhesion Molecule
CAR solu	CXCL12-rikas retikulaarisolu
CaSR	Calcium-Sensing Receptor
CSC	syövän kantasolu
CTC	sirkulatorinen syöpäsolu tai (veressä tai imunesteessä) kiertävä syöpäsolu
CXCL12	C-X-C motif Chemokine 12 (myös Stromal cell-Derived Factor 1, SDF-1)
CXCR4	C-X-C motif Chemokine Receptor 4
DTC	disseminoitunut syöpäsolu tai uuteen kohdekudokseen levinnyt syöpäsolu
ECM	soluväliaine
EMP	epiteeli-mesenkyymi-muovautuvuus
EMT	epiteeli-mesenkyymi-muunnos
ER	estrogeenireseptori
FN	fibronektiini
HA	hyaluronaatti
HER2	Human Epidermal Growth Factor Receptor 2
HSC	hematopoieettinen kantasolu tai veren kantasolu

IL	interleukiini
MDSC	myeloinen vaimentajasolu
MET	mesenkyymi-epiteeli-muunnos
MIC	etäpesäkkeen alkusolu
miR	mikro-RNA
MMP	matriksimetallproteinaasi
MSC	mesenkymaalinen kantasolu tai - stroomasolu
OCN	osteokalsiini
ON	osteonektiini
OPN	osteopontiini
Osx	Osterix
PR	progesteronireseptori
PTHrP	Parathormonin-kaltainen peptidi
RANK(L)	Receptor Activator of Nuclear factor-Kappa B (Ligand)
TGF- β	Transforming Growth Factor β
TIC	tuumorin alkusolu
TME	kasvaimen mikroympäristö tai primaarikasvaimen kudosympäristö
TREG solu	säätelijä-T-solu
TSP	trombospondiini
VCAM	Vascular Cell Adhesion Molecule
VLA-4	Very Late Antigen 4 (myös integriini $\alpha 4\beta 1$)
VTN	vitronektiini

Sisällysluettelo

Käytetyt lyhenteet	2
Sisällysluettelo	4
KIRJALLISUUSTUTKIELMA	5
1. Johdanto	5
2. Osteotropismi levinneessä rintasyövässä	6
3. Luuytimen kudostympäristö säätelee luumetastaasien kehittymistä	8
3.1. Luustolähtöiset tekijät houkuttelevat rintasyöpäsoluja hakeutumaan luuytimen stroomaan	9
3.2. Rintasyöpäsolut selviytyvät uudessa ympäristössään luuytimen tarjoamia vuorovaikutuksia hyödyntäen	13
3.3. Uinumisen ylläpitoon ja kumoamiseen vaikuttaa keskeisesti rintasyöpäsolun kokema kudostympäristö luuytimessä	20
4. Lopuksi	34
Kirjallisuus	36

KIRJALLISUUSTUTKIELMA

1. Johdanto

Suomen Syöpärekisteriin vuosina 2014–2018 kerätyn aineiston perusteella noin 13 %:n suomalaisnaisista – tai yhden 7,5 naista kohden – arvioidaan sairastuvan rintasyöpään jossakin vaiheessa elämäänsä (Suomen Syöpärekisteri). Rintasyövän seulontatutkimukset, kehittyneet diagnoosimenetelmät sekä kansalaisten lisääntynyt syöpätietoisuus edistävät rintasyövän havaitsemista taudin alkumetreillä; joka yhdistettynä nykyisiin hoitokeinoihin on onnistunut nostamaan rintasyöpäpotilaiden keskimääräisen viiden vuoden elossaololuvun jopa 90 %:iin (Siegel et al., 2020). Valtaosa rintasyöpään liittyvistä kuolemista aiheutuukin rintasyövän levinneestä muodosta, johon ei ole vielä tänä päivänä toimivaa hoitokeinoa (Sambi et al., 2019). Levinnyttä rintasyöpää sairastavalle voidaan kuitenkin yleensä tarjota palliatiivisen hoidon (Cherny et al., 2018) lisäksi myös sairauden etenemistä hidastavia hoitomuotoja (Sambi et al., 2019).

Levinneeksi rintasyöväksi kutsutaan tautia, jossa rintasyövän etäpesäkkeitä (metastaaseja) havaitaan rintarauhasen ja kainalon vartijaimusolmukkeiden ulkopuolisissa kudoksissa. Yleisimmät kaukometastaasien kohteet rintasyövässä ovat keuhkot, maksa, luusto ja aivot (Wei & Siegal, 2017). Noin 5–10 % todetuista rintasyövästä ovat levinneitä jo ensi diagnoosissa (engl. *de novo* metastatic breast cancer), ja jopa 30 %:lla rintasyöpäpotilaista ilman havaittua imusolmukkeisiin leviämistäkin arvioidaan todettavan lopulta levinnyt rintasyöpä (Cherny et al., 2018). Lisäksi etäpesäkkeitä voi osalle potilaista ilmetä vasta parin vuosikymmenenkin päästä rintasyöpähoitojen päättymisestä (Kim et al., 2019).

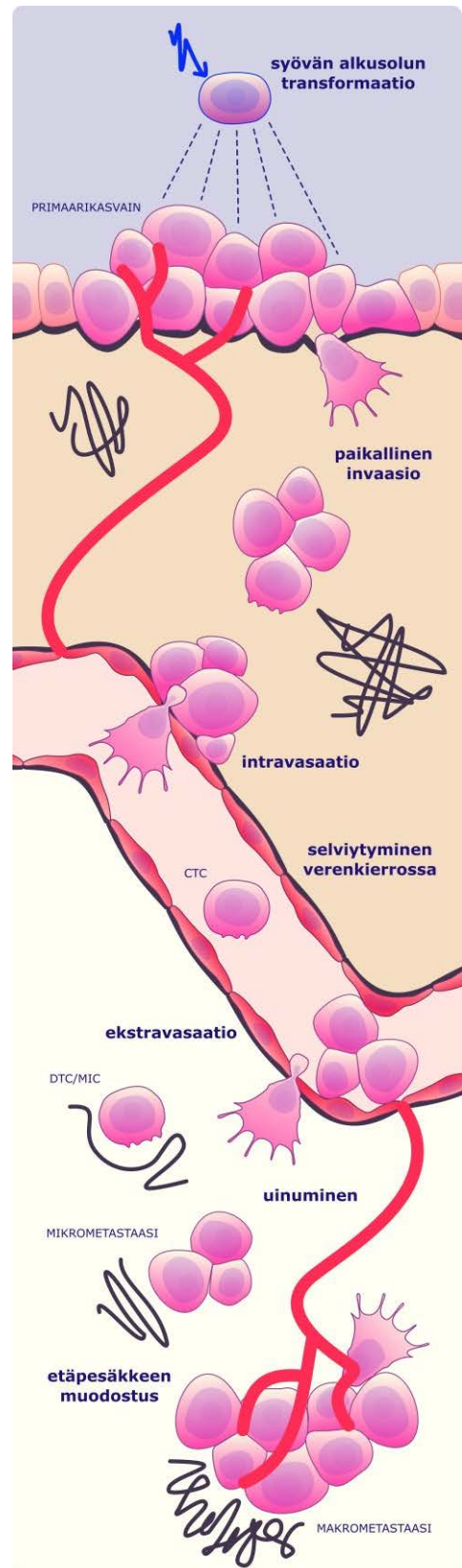
Luumetastaaseja havaitaan noin 70 %:lla levinnyttä rintasyöpää sairastavista potilaista. Luuston etäpesäkkeistä johtuvaan oireistoon ja komplikaatioihin kuuluvat esimerkiksi luukipu, luiden murtumat, hyperkalsemia sekä metastaasin aiheuttama selkäytimen puristustila (Coleman et al., 2014). Lisäksi yksittäisten rintasyöpäsolujen löytymisen luuydinnäytteistä on osoitettu ennustavan metastaattista uusiutumista sekä menehtymistä syöpään (Mathiesen et al., 2012; Tjensvoll et al., 2012). Erityisesti tyypillisesti rintasyövässä nähtävien, luuta hajottavien (osteolyyttisten) luumetastaasien muodostumisen loppuvaiheista tiedetään verrattain paljon, mutta tätä edeltävien tapahtumaketjujen kartoitus on yhä aktiivinen tutkimusalue (Zarrer et al., 2020).

Tämä tutkielma keskittyy tarkastelemaan luuytimeen saapuneeseen rintasyöpäsoluun vaikuttavan mikroympäristön roolia luustoetäpesäkkeiden muodostumisen alkuvaiheissa.

2. Osteotropismi levinneessä rintasyövässä

”Vaikka kasvin siemenet kantautuisivat laajalle, ne lähtevät itämään vain pudotessaan kasvulleen suotuisaan maaperään”¹, kuvaili Stephen Paget vertauskuvallisesti etäpesäkkeen muodostumista kuuluisassa julkaisussaan vuonna 1889. Analysoimalla 735 rintasyöpään menehtyneiden potilaiden ruumiinavauspöytäkirjaa, Paget havaitsi rintasyövän etäpesäkkeiden ilmentyvän liian säännönmukaisesti vain tietyissä elimissä sen ollessa pelkkää sattuman kauppaa. Primaarikasvaimesta irronneen syöpäsolun ja tämän vastaanottavan kudoksen yhteensopivuuden merkitykseen etäpesäkkeiden muodostumisessa viitattiin ensimmäisen kerran siis jo yli 130 vuotta sitten. Tänä päivänä Pagetin esittämä hypoteesi tunnetaan nimellä Seed and soil -teoria, ja sen nähdään luoneen pohjan nykyiselle käsitykselle metastaasien muodostumisesta. Fidler päivitti teorian vuonna 2003 esittämällä nykytutkimukseen pohjaten kolme pääperiaatetta: (1) Sekä primaarikasvaimet että näiden lähettämät etäpesäkkeet ovat heterogeenisiä ja niiden sisältämät solut vaihtelevat invaasio, metastasointi sekä angiogeneesiä stimuloivilta ominaisuuksiltaan. (2) Etäpesäkkeet muodostuvat soluista, jotka ovat selviytyneet jokaisen invaasio-metastaasi-kaskadin (Kuva 1) vaiheen läpi. Etäpesäkkeet voivat olla peräisin yhdestä tai useammasta edellä mainitun kaltaisesta solusta. (3) Etäpesäkkeen muodostumiseen vaikuttaa keskeisesti syöpäsolun ja tämän vastaanottavan kudoksen välinen vuorovaikutus.

Rintasyöpä on yleistermi monelle erityyppiselle rintarauhasesta lähtöisin olevalle syövälle. Geenien ilmentämisprofiliin perustuva luokittelu jakaa rintasyövät viiteen ryhmään: luminaalinen A (ER+/PR+/HER2-/KI67-), luminaalinen B



Kuva 1. Etäpesäkkeen muodostumisen päävaiheet karsinoomissa. Ks. esim. Lambert et al., 2017.

(ER+/PR+/HER2-/KI67+), HER2 muoto (ER-/PR-/HER2+), basaalinen (ER-/PR-/HER2-/basaalimarkkeri+) ja normaalin-kaltainen (ER+/PR+/HER2-/KI67-)¹ (Dai et al., 2015). Rintasyövissä nähdään eroja myös kudostropismissa (engl. tissue tropism tai organotropism) näiden levitessä (Kennecke et al., 2010; Sihto et al., 2011). Esimerkiksi termillä osteotrooppinen (engl. osteotropic, sanoista kreik. ὀστέον [osteon], ”luu” ja τρόπος [tropos], ”kääntyminen”) viitataan rintasyövän levinneeseen muotoon, joka on erityisen altis muodostamaan kaukoetäpesäkkeitä luustoon (Rucci et al., 2014). Kennecke et al. esittivät rintasyöpien – basaalista lukuunottamatta – muodostavan etäpesäkkeitä yleisimmin luustoon. Estrogeenireseptorin ilmentäminen näytti vaikuttavan luumetastaasien todennäköisyyteen eniten; ER+ potilailla luumetastaaseja nähtiin noin 70 %:lla tapauksista, kun taas ER- status tuotti niitä vastaavasti vain noin 40 %:n tilastollisella todennäköisyydellä (Kennecke et al., 2010). Sihto et al. puolestaan esittivät luminaalisen A muodon osteotrooppisimmaksi rintasyöväksi levinneenä (Sihto et al., 2011).

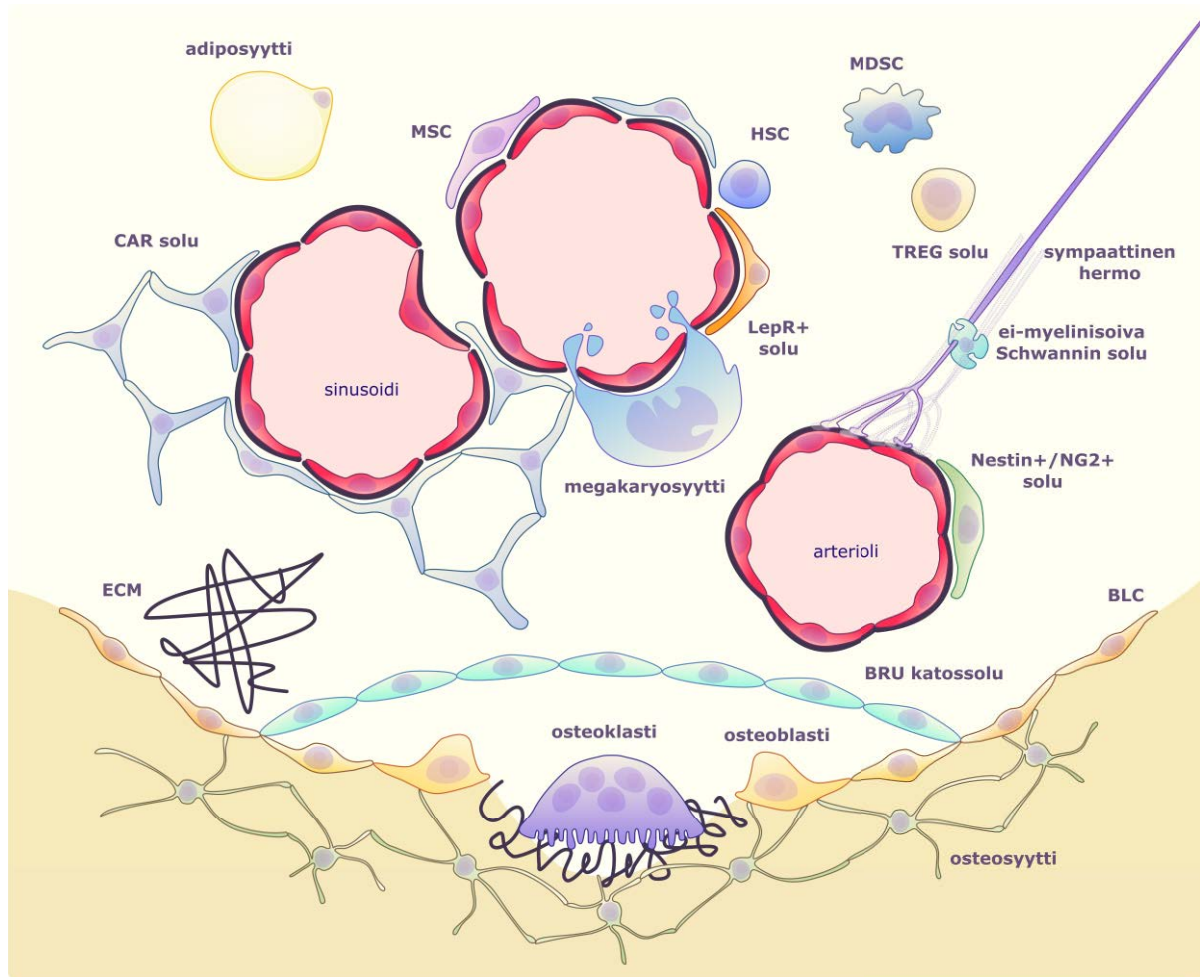
Kudostropismi lienee ilmiönä monitekijäinen (Gao, Y. et al., 2019). Luumetastaasien kohdalla esille on nostettu esimerkiksi: (1) Syöpäsolujen luumimikointi (engl. osteomimicry) (Rucci & Teti, 2018). Luuta muodostaville osteoblasteille tyypillisen geeniprofiilin ilmentyminen² luumetastasoivissa syöpäsoluissa helpottanee näiden adaptoitumista uuteen ympäristöönsä sekä mahdollisesti antaa myös suojaa paikalliselta immuunipuolustukselta (engl. immune evasion) (Brook et al., 2018). (2) Kohdekudoksen esivalmistelu etäpesäkkeen muodostumisen tueksi (esivalmis metastaatinen lokero, engl. pre- tai pro-metastatic niche) (Cox et al., 2012). Kehittyvä etäpesäke muovaa välitöntä kudossympäristöään (mikroympäristö, engl. microenvironment) kasvulleen sopivaksi. Esimerkiksi rintasyöpäsolut voivat tehostaa luuston normaalia uusiutumismekanismia kasvunsa tukemiseksi (Ren et al., 2015). Syöpäsolujen on myös esitetty osallistuvan kohdekudoksensa muovaamiseen jo primaarikasvaimesta lähtien (Kaplan et al., 2005). Esimerkiksi Cox et al. osoittivat ER- rintasyövässä systeemisen lymfylioksidaasin erityksen johtavan osteolyyttisten leesioiden muodostumiseen aktivoimalla osteoklastien erilaistumista NFATc1 välitteisesti ilman RANK/RANKL signalointia (Cox et al., 2015). (3) Syöpäsolujen kilpailu kantasoluja säätelevistä vuorovaikutuksista (Forest et al., 2013). Etäpesäkkeitä muodostavilla syöpäsoluilla on havaittu kantasolumaisia ominaisuuksia. Syöpäsolujen on myös esitetty hyödyntävän veren kantasoluja ylläpitävää kudossympäristöä, kantasolulokeroa (engl. stem cell niche), luuytimeen asettuakseen.

¹ Luminaalista A:ta alhaisempi ilmentyminen (Dai et al., 2015).

² Esimerkiksi Runx2, osteopontiini, osteonektiini, konneksiini-43, kadheriini-11 sekä Cathepsin K (Rucci & Teti, 2018).

3. Luuytimen kudossympäristö säätelee luumetastaasien kehittymistä

Rintasyöpälähtöisiä luumetastaaseja havaitaan pääasiassa aksiaalisessa luustossa (Coleman et al., 2014), mikä vastaa myös punaisen luuytimen paikantumista aikuisiässä (Karantanás & Panicek, 2009). Punainen luuydin on aktiivinen niin luun uudelleen muokkauksen, kuin verisolujen muodostuksenkin (hematopoieesi) suhteen (Maes, 2013) (Kuva 2).



Kuva 2. Pelkistetty katsaus luuytimen kudossympäristöön homeostaattisessa tilassa.

Punaisen luuytimen strooma voidaan jakaa karkeasti kahteen osastoon: pääasiassa hiussuoniverkostosta koostuvaan luuytimen keskusta (engl. vascular niche) ja luun pintaa verhoavaan luukalvoon (endosteum) (engl. endosteal niche). CXCL12-rikkaiden retikulaarisolujen (CAR solu) verkosto sekä soluväliaine (ECM) levittäytyy koko luuytimen alueelle. Luuydin ylläpitää sekä verisoluja muodostavia kantasoluja (HSC) että mesenkymaalisten solujen esiasteita (MSC). Selkeyden vuoksi kuva painottuu luun uudelleenmuokkaukseen ja verenkanasolujen ylläpitoon osallistuviin solupopulaatioihin (Beerman et al., 2017; Kenkre & Bassett, 2018). BLC: luuta rajaava solu, BRU: luun uudelleenmuokkausyksikkö, MDSC: myeloinen vaimentajasolu, TREG: säätelijä-T-solu.

3.1. Luustolähtöiset tekijät houkuttelevat rintasyöpäsoluja hakeutumaan luuytimen stroomaan

Veriteitse tai imusuonien kautta kulkeutuvia, primaarikasvaimesta karanneita syöpäsoluja (engl. circulatory tumor cell, CTC) koettelee niin mekaanisen virtauksen aiheuttama stressi kuin immuunijärjestelmän vastekin transformoituneiden solujen tuhoamiseksi (Joyce & Pollard, 2009). Kohdekudokseen saakka selviytyneiden syöpäsolujen lukumäärän on arvioitu olevan sadasosan luokkaa emokasvaimesta irronneiden syöpäsolujen kokonaismäärään nähden (Lambert et al., 2017). Luuytimen imusuonituksen olemassaolon ollessa hyvin kiistanalainen (Edwards et al., 2008), luustoon hakeutuvien syöpäsolujen ensikosketuksen uuden elinympäristönsä kanssa voidaan olettaa tapahtuvan todennäköisimmin näiden takertuessa luuytimen hiussuoniverkoston. Kypsyneiden verisuonien tiivis endoteelikerros toimii yleensä hyvänä esteenä syöpäsolujen siirtymiselle kohdekudokseen. Lähes kaikista eri syöpätyypeistä on kuitenkin voitu havaita yksittäisiä syöpäsoluja tautia sairastavien potilaiden luuydinnäytteissä; mukaan lukeutuu myös sellaisia syöpiä, joiden yhteydessä luustoetäpesäkkeitä ei ole koskaan havaittu ilmenevän. Yhtenä selittävänä tekijänä voidaan pitää luuytimen hiussuoniverkoston runsaasti fenestroituja sinusoideja, jotka aukkojensa ansiosta läpäisevät tavallisiin laskimoverisuoniin verrattuna paremmin, mutta toisaalta myös hidastavat veren virtausnopeutta; edistään näin syöpäsolujen mahdollisuutta pysähtyä luuytimeen (Bussard et al., 2008; Esposito et al., 2018). Lisäksi luuytimen endoteelisolut ilmentävät erilaisia adheesioproteiineja, kuten P- ja E-selektiinejä, Intracellular Adhesion Protein A:ta (ICAM-A) ja Vascular Adhesion Molecule 1:tä (VCAM-1) tasolla, joka muissa kudoksissa nähtäisiin vain tulehdusvasteen yhteydessä (Bussard et al., 2008; Hensel & Thalmann, 2016); tehostaen näin syöpäsolujen ensikontaktia verisuonistoon ja siirtymistä luuytimen stroomaan. Leukosyyteille tyypillisien kohdekudokseen hakeutumisen (engl. homing) mekanismien arvellaan toimivan myös syöpäsoluille (Bussard et al., 2008; Coussens & Werb, 2002). Edellä mainittujen ominaisuuksien takia syöpäsolun siirtymistä uuteen elinympäristöönsä ei nähdä rajoittavana tekijänä luustoetäpesäkkeen muodostumiselle, toisin kuin esimerkiksi keuhkometastaasien kohdalla (Esposito et al., 2018).

Muistuttaen leukosyyttien kulkeutumista tulehduspaikalle, myös syöpäsolut hyödyntävät kemotaktisia signaaleja kudoksissa levitessään (Coussens & Werb, 2002). Suurimmalla osalla kemotaktista liikkumista stimuloivista tekijöistä on rooli myös syöpäsolun kasvun ja selviytymisen tukijoina (Roussos et al., 2011). CXCR4/CXCL12 signaalointi lienee yksi merkittävimmistä rintasyövän leviämiseen vaikuttavista tekijöistä, mutta toimii keskeisessä roolissa myös vaikkapa verenkantasolujen (engl. hematopoietic stem cell, HSC)

hakeutumisessa luuytimeen kantasolusiirron yhteydessä (Mukherjee & Zhao, 2013). C-X-C motif chemokine receptor type 4 (CXCR4) G-kytkentäinen kemokiinireseptori kuuluu myös erityisen osteotrooppiselle MDA-MB-231 rintasyöpäsolulinjan alapopulaatiolle tunnusomaiseen geeniprofiiliin, jossa sen osoitettiin ilmentyvän nelinkertaisena MDA-MB-231 emolinjaan nähden (Kang et al., 2003). CXCR4:n on lisäksi esitetty olevan toiminnallinen vain etäpesäkkeen muodostukseen kykenevillä syöpäsoluilla (Holland et al., 2006). Monet luuytimen kudossympäristön solut – kuten endoteelisolut, osteoblastilinja sekä muut mesenkymaaliset stroomasolut – erittävät CXCR4 reseptorin vastinparia, kemokiini CXCL12:ta (Brook et al., 2018). Lisäksi runsasta CXCL12:n eritystä nähdään myös muissa rintasyöville tyypillisissä kaukometastaasikohteissa (Coussens & Werb, 2002). CXCR4/CXCL12 signaloinnin on *in vitro* kokeissa osoitettu aktivoivan G-proteiini välitteisesti esimerkiksi ERK1/2, JNK, p38 MAPK ja GSK3 α/β signaalintireittejä (Brook et al., 2018). Signaloinnin johtaessa muun muassa syöpäsolujen lisääntyneeseen liikkumiskykyyn, hakeutunevat CXCR4+ rintasyöpäsolut näin kohti CXCL12 rikkaita kudossympäristöjä (Teicher & Fricker, 2010). Toisaalta esimerkiksi Price et al. esittivät CXCR4/CXCL12:n merkityksen olevan toissijainen veriteitse kulkeutuville rintasyöpäsoluille ja luuytimeen hakeutumiselle, vaikkakin CXCR4/CXCL12 piti syöpäsolut kiinnittyneenä luuytimen kudossympäristöön (Price et al., 2016).

RANK/RANKL signaali on merkittävä luuta hajottavien osteoklastien erilaistumiseen (osteoklastogeneesi) vaikuttava tekijä. RANK/RANKL toimii keskeisenä myös luumetastaasien yhteydessä nähtävässä, osteolyttiseksi noidankehäksi (engl. osteolytic vicious cycle) kutsutussa positiivisessa takaisinkytkennässä, jossa hajotetusta luusta vapautuneet kasvutekijät tukevat syöpäsolujen kasvua, mutta toisaalta syöpäsolut itse stimuloivat luun hajotusta (Dougall et al., 2014; Mundy & Guise, 1997). Osteoklastien lisäksi Receptor Activator of NF- κ B (RANK) reseptori ilmentyy myös rintarauhasen soluissa. RANK/RANKL signaloinnin on esitetty toimivan niin maitoa tuottavan rintarauhasen kehityksessä, rintarauhasen kantasolujen säätelyssä, kuin rintasyövänkin kehittämisessä (Infante et al., 2019; Rao et al., 2018). RANK/RANKL signaloinnin on esimerkiksi osoitettu indusoivan muun muassa invaasiokykyä lisäävän epiteeli-mesenkymy-muunnoksen (engl. epithelial-mesenchymal-transition, EMT) *in vitro* sekä rintarauhasen soluissa että rintasyöpäsoluissa lisäämällä Snail ja Twist transkriptiotekijöiden ilmentymistä NF- κ B välitteisesti (Tsubaki et al., 2013). Lisäksi yksistään RANK:n yli-ilmentämisen MDA-MB-231 rintasyöpäsoluissa on osoitettu lisäävän luumetastaasien muodostusta hiirimallissa (Blake et al., 2014). RANK reseptorin ilmentämisen on osoitettu olevan myös kliinisesti merkittävä,

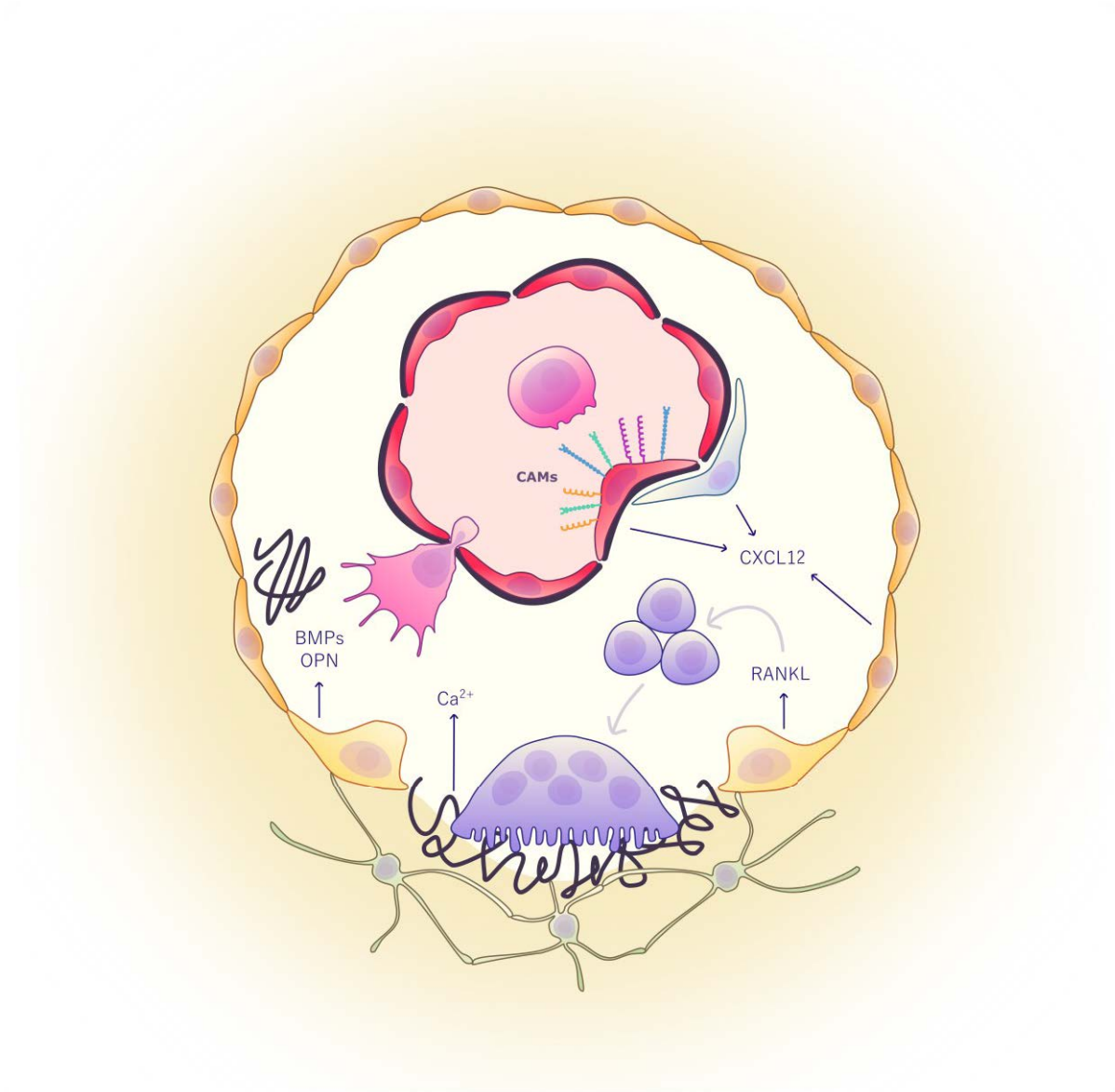
sillä korkea RANK ilmentyminen rintasyöpäkasvaimessa on liitetty kohonneeseen riskiin syövän uusiutumiselle sekä syöpään menehtymiselle (Pfitzner et al., 2014). RANK ligandia (RANKL) tuottavat osteoblastilinjan solut (Xiong & O'Brien, 2012). Runsas RANKL konsentraatio luun tuntumassa todennäköisesti houkuttelee RANK⁺ rintasyöpäsoluja luuytimeen stimuloimalla näiden migraatiota (Infante et al., 2019).

Luun normaalin uudelleenmuokkauksen yhteydessä kalsiumioneja (Ca^{2+}) vapautuu luun mineralisoituneesta soluväliaineesta (engl. extracellular matrix, ECM). Maidontuotannon yhteydessä myös rintarauhanen stimuloi kalsiumin vapautumista luusta erittämällä parathormonin kaltaista peptidiä (engl. parathyroid hormone-related protein, PTHrP) verenkiertoon. PTHrP:n erityys säilyy toiminnallisena rintasyöpäsoluissa. Lisäksi luustoon metastaseja muodostavien rintasyöpäsolujen PTHrP:n erityksen on esitetty olevan korkeampi primaarikasvaimen syöpäsoluihin nähden (Hiremath & Wysolmerski, 2014). *In vitro* kokeissa korkean Ca^{2+} pitoisuuden on osoitettu toimivan kemoattraktanttina ja migraatio stimulanttina rintasyöpäsoluille Calcium Sensing Receptor (CaSR) reseptorin kautta (Saidak et al. 2009). Vastaavaa nähdään myös HSC solujen paikantumisessa luun tuntumaan luuytimen kudossympäristössä (Adams et al., 2006). Vaikka CaSR:n aktivointi vähentää PTHrP:n tuottoa rintarauhasessa, rintasyöpäsoluissa nähdään päinvastainen ilmiö PTHrP:n erityksen tehostuessa. PTHrP:n tuoton uskotaan myös stimuloivan rintasyöpäsolujen selviytymistä ja proliferaatiota (Hiremath & Wysolmerski, 2014), sekä RANKL:n tuottoa osteoblasteissa; tukien näin osteolyyttisen noidankehän muodostumista, mihin edellä jo viitattiinkin (Akhtari et al., 2008).

Lisäksi esimerkiksi osteoblastien tuottaman osteopontiinin (OPN) ja Bone Morphogenic Protein (BMP) proteiinien on esitetty toimivan kemoattraktanteina rintasyöpäsoluille (Obenauf & Massagué, 2015). Rintasyöpäsolujen ilmentämä $\alpha\text{V}\beta 3$ integriini lienee merkittävin osteopontiiniin kiinnittyvistä reseptoreista luumetastaasien yhteydessä, ja näiden vuorovaikutus parantaa syöpäsolun kiinnittymistä ympäristöönsä sekä lisää migraatiota ja invaasiokykyä (Pang et al., 2019). Myös BMP proteiinit vaikuttavat rintasyöpäsoluihin muutoin kuin kemotaksista indusoimalla. BMP signaloinnin on esimerkiksi esitetty aktivoivan – BMP proteiinista riippuen – joko EMT ohjelmia (erityisesti BMP-2 ja BMP-4) tai käänteistä mesenkyymi-epiteeli-muunnosta (engl. mesenchymal-epithelial-transition, MET) (BMP-5 ja BMP-6) rintasyöpäsoluissa (Zabkiewicz et al., 2017). Lisäksi Tan et al. osoittivat BMP-2:n indusoivan TGF- β :n aktivoiman EMT:n kautta mesenkymaaliseen fenotyyppiin muuntuneissa rintasyöpäsoluissa luumimikointia, joka puolestaan lisäsi muun muassa syöpäsolujen

liikkumiskykyä ja kemoresistenssiä osteogeenisessä kudospäristössä *in vitro* (Tan et al., 2016).

Kuvassa 3. esitetään yhteenveto edellä esitellyistä, rintasyöpäsoluun vaikuttavista tekijöistä näiden hakeutuessa luuytimeen verenkierrosta.



Kuva 3. Monet luuston ominaisuudet edistävät rintasyöpäsolujen pääsyä luuytimen stroomaan. Luuytimen hiussuoniverkoston runsas adheesiomolekyylien (CAMs) ilmentäminen, sinusoidien fenestraatio sekä monet luuytimen kudospäristön solujen erittämät - ja luun uudelleenmuokkauksesta vapautuvat kemoattraktanttiset tekijät (kuten CXCL12, RANKL, kalsiumionit, OPN ja BMP proteiinit) edistävät rintasyöpäsolujen hakeutumista luuytimen stroomaan. OPN: osteopontiini, BMPs: Bone Morphogenic Protein -proteiinit.

3.2. Rintasyöpäsolut selviytyvät uudessa ympäristössään luuytimen tarjoamia vuorovaikutuksia hyödyntäen

Celià-Terrassa & Kang esittävät etäpesäkkeen muodostusta ajavan kudossympäristön (metastaattinen lokero, engl. metastatic niche) rakentuvan neljän peruspilarin varaan: (1) Kudossympäristö tarjoaa fyysisen kiinnittymispaikan kudokseen saapuneille syöpäsoluille estäen anoksisen tyyppisen solukuoleman. (2) Syöpäsolun vuorovaikutus mikroympäristönsä kanssa aktivoi selviytymistä edistäviä signaalintireittejä syöpäsolussa. (3) Syöpäsolu saa suojaa niin erilaistumiseen johtavilta signaaleilta kuin immuunipuolustuksen vasteeltakin. (4) Kudossympäristö tukee mahdollisten uinuvien syöpäsolujen aktivoitumista kasvaimen muodostukseen (Celià-Terrassa & Kang, 2018). Kohtaan (4) syvennyttään tarkemmin vasta kappaleessa 3.3. *Uinuvien ylläpitoon ja kumoamiseen vaikuttaa keskeisesti rintasyöpäsolun kokemus kudossympäristö luuytimessä.*

Luumetastaasien muodostumisessa voidaan erottaa karkeasti kaksi erilaista vaihetta: vahvasti syöpäsolun mikroympäristön tarjoamista vuorovaikutuksista riippuva alkuvaihe sekä loppuvaihe, jossa syöpäsolun vaikutus oman kudossympäristönsä muokkaamiseen korostuu (Croucher et al., 2016). Mundy ja Guisen vuonna 1997 kaavoittama konsepti osteolyttisestä noidankehästä (Mundy & Guise, 1997) on klassinen esimerkki syöpäsolun ja tämän mikroympäristön välisestä patologisesta vuoropuhelusta (Zarrer et al., 2020), joka käynnistyessään ajaa metastaasin muodostumista itseään ruokkien. Syöpäsolujen invaasiokyky ja elinympäristönsä muovaaminen kasvuaan tukeväksi perustuu pitkälti näiden ilmentämien soluväliainetta hajottavien proteaasien toimintaan (Sevenich & Joyce, 2014). Erityispiirteenä luukudoksessa on kuitenkin muista sidekudostyypeistä poiketen sen soluväliaineen mineralisaatio (Kenkre & Bassett, 2018), jonka vuoksi luun rakenne on hyvin kova, ja joka toisaalta myös estää luuytimeen saapuneita syöpäsoluja hajottamasta luuta (Ren et al., 2015). Luu pysyy kuitenkin dynaamisena läpi elämän; luustosta uusitaan noin 10 % vuosittain. Uudelleenmuokkaus käynnistyy vasteena mekaaniseen stressiin luun vaurioitumisen yhteydessä, mutta myös, kun luun varastoimia mineraaleja tarvitaan elimistössä (Kenkre & Bassett, 2018). Vaikka rintasyöpäsolut eivät kykene itse muokkaamaan luuta, ne tekevät näin välillisesti tehostamalla luun normaalia uudelleenmuokkaus toimintaa aktivoimalla osteoklasteja ja osteoblasteja. Esimerkiksi rintasyöpäsolun erittämät sytokiinit ja kasvutekijät kuten Tumor Necrosis Factor α (TNF- α), interleukiini 11 (IL-11), VCAM-1, matriksimetalloproteinaasi 1 (MMP-1), Jagged-1 ja PTHrP vaikuttavat osteoklastogeneesiä aktivoimalla; joko välillisesti stimuloimalla interleukiini 6:n (IL-6) ja RANKL:n eritystä osteoblasteista tai vaikuttamalla suoraan osteoklastien esiasteisiin. Osteoklastien hajottaessa

luuta, luun soluväliaineesta vapautuu erilaisia kasvutekijöitä kuten TGF- β ja Insulin-like Growth Factor 1 (IGF-1), jotka lisäävät syöpäsolun selviytymistä ja proliferaatiota muodostaen positiivisen takaisinkytkennän (Ren et al., 2015). Osteolyyttisen noidankehän käynnistyminen on kuitenkin esimerkki luustoetäpesäkkeen muodostumisen loppuvaiheen tapahtumista, jota voi edeltää hyvinkin pitkä aika, jolloin syöpäsolun on turvauduttava muihin selviytymiskeinoihin.

Joissakin tapauksissa syöpähoitojen vaikutukselta säästyneiden (engl. minimal residual disease, MRD), sekundaarisen tuumorin muodostuksen aloittavien syöpäsolujen on lisäksi säilytettävä kasvukykyänsä jopa vuosikymmenten ajan; syöpäsolujen voidessa viettää hiljaiseloa pitkäänkin ennen etäpesäkkeen muodostukseen aktivoitumistaan (Celià-Terrassa & Kang, 2018). Rintasyöpää sairastavien potilaiden luuydinnäytteistä löydettyt yksittäiset rintasyöpäsolut edustavat havaintojen perusteella pääasiassa mesenkymaalista solua muistuttavaa (esimerkiksi N-kadheriini^{korkea}/E-kadheriini^{matala}) sekä usein myös kantasolumaista (CD44^{korkea}/CD24^{matala}) ilmiä eli fenotyyppejä (Sai & Xiang, 2018). Irtautuakseen primaarikasvaimesta, karsinoomasolut lisäävät invaasiokykyään muuntumalla mesenkymaalisen fenotyypin suuntaan aktivoimalla alkionkehityksen aikana normaalisti toimivia EMT ohjelmia (Lambert et al., 2017). Invasio- ja liikkumiskyvyn lisäksi, EMT:n on esitetty edistävän syöpäsolun kantasolumaisuutta (engl. stemness) sekä uinumista (engl. dormancy) (Weidenfeld & Barkan, 2018). EMT toiminee luuytimeen saapuneen syöpäsolun selviytymistä tukevana, kohdekudoksesta riippumattomana mekanismina kolonisaation alkuvaiheessa (Esposito et al., 2018; Tiwari et al., 2012). Syöpäsolujen EMT:n kuitenkin ajatellaan käynnistyvän primaarikasvaimen kudospäristöstä (engl. tumor microenvironment, TME) saatujen signaalien avustamana ja tarvitsevan ylläpitäjää mesenkymaaliseen suuntaan muuntuneen ilmiänsä sekä kantasoluominaisuuksien säilyttämiseksi (Gao, D. & Mittal, 2012; Roato & Ferracini, 2018). Vaikkakin solun sisäisillä tekijöillä on oma roolinsa, syöpäsolun mikroympäristöstään saamien signaalien uskotaan vaikuttavan keskeisesti kantasoluominaisuuksien ylläpitoon ja muuhun ilmiänsä muovautuvuuteen (engl. phenotypic plasticity) myös etäpesäkkeen muodostumiskohteessa (Celià-Terrassa & Kang, 2018).

Punaisen luuytimen solupopulaatio koostuu erilaisista verisoluista ja näiden esiasteista, endoteelisoluista, jotka muodostavat luuytimen hiussuoniverkostoa, sympaattisia hermosyitä muodostavista hermosoluista ja näitä tukevista hermotukisoluista sekä erilaisista mesenkymaalisista luuytimen stroomasoluista, kuten fibroblastisista retikulaarisoluista (CAR solu), osteoblastilinjien soluista ja rasvasoluista (Kuva 2). Edellä mainittuja komponentteja

tukee luuytimen soluväliaine, joka muodostuu pääasiassa eri kollageeneista (erityisesti kollageeni I-XI), fibronektiinistä (FN), laminiinista, trombospondiineista (TSP), periostiinista (POSTN), suurista proteoglykaaneista (esimerkiksi syndekaani, perlekaani, bioglykaani ja dekoriini) sekä glykosaminoglykaani hyaluronaatista (HA) (Chen et al., 2007; Klammer & Voermans, 2014). Luuytimeen saapuneet syöpäsolut voivat hakea kiinnittymispintaa niin luuytimen kudostympäristön soluista kuin sen soluväliaineestakin aktivoitakseen sisäisiä selviytymissignaalintireittejään ja ylläpitääkseen erilaistumatonta, kantasolumaista fenotyyppiä.

Integriinit ovat α ja β alayksiköstä koostuvia heterodimeerisiä solukalvon reseptoreja, jotka toimivat sekä solujen kiinnittymisessä ympäristöönsä että signaalien välityksessä. Integriinit kiinnittyvät yleensä RDG tyyppisiin motiiveihin kohdemolekyyleissä, ja aktivoivat integriini-FAK välitteisesti PI3K sekä MAPK selviytymissignaalintireittejä (Chiarugi & Giannoni, 2008). Rintasyöpälähtöisiin luumetastaaseihin liittyen tärkeimpiä integriinejä lienevät: α V β 3, α V β 5, α 4 β 1 ja α 5 β 1 (Schneider et al., 2011). Integriiniä α V β 3 ilmentävien syöpäsolujen on osoitettu kiinnittyvän vitronektiiniin (VTN), OPN:iin, luun sialoproteiineihin (engl. Bone Sialoprotein, BSP), FN:iin ja trombospondiini-1:een (TSP-1) (Schneider et al., 2011) sekä CD44 glykoproteiiniin (Esposito & Kang, 2014). Luuytimen kudostympäristön OPN:iin kiinnittymällä, α V β 3:n on osoitettu selviytymissignaaloinnin lisäksi stimuloivan MMP-9:n yli-ilmentymistä rintasyöpäsoluissa (Rolli et al., 2003); lisäksi näiden invaasiokykyä. Myös hyvin osteotrooppinen rintasyöpäsolulinja MDA-MB-231-B02 yli-ilmentää α V β 3:ta (Zhao, Y. et al., 2007). Integriinin α V β 5 kautta syöpäsolun kiinnittymiskohteita ovat VTN, BSP, osteonektiini (ON) ja FN. Integriiniä α 4 β 1 (tai Very Late Antigen 4, VLA-4) ilmentävät syöpäsolut voivat puolestaan kiinnittyä VCAM-1:een, FN:iin ja OPN:iin (Schneider et al., 2011). VLA-4 ilmentyy myös osteoklastien esiastesoluissa. Rintasyöpäsolujen ilmentämä VCAM-1 houkuttelee sekä sitoo VLA-4 positiivisia osteoklastien esiasteita, avustaen näin niiden fuusiota kypsiksi luuta hajottaviksi osteoklasteiksi (Lu, X. et al., 2011) ja tehostaen osteolyyttistä noidankehää. Korah et al. osoittivat *in vitro* mallilla rintasyöpäsolujen kiinnittyvän α 5 β 1 integriini välitteisesti luuytimen FN:iin, ja aktivoivan näin selviytymissignaalintiaan. Lisäksi luuytimen kudostympäristössä runsaana ilmenevän Fibroblast Growth Factor 2 (FGF-2) kasvutekijän havaittiin pysäyttävän rintasyöpäsolujen kasvun *in vitro*, mutta toisaalta myös nostavan α 5 β 1:n ilmentymistä; tarjoten näin yhden mallin syöpäsolujen selviytymiselle uinumisensa aikana (Korah et al., 2004).

Vuonna 1978 Schofield postuloi veren kantasolujen loputtomalta vaikuttavan uusiutumispotentiaalin takaa löytyvän kantasolujen säätelyyn erikoistuneen kudostympäristön,

kantasolulokeron (Schofield, 1978). Makromaailmamme ekologisten lokeroiden tavoin, HSC solujenkin toimintaan vaikuttaa sekä bioottisia (kantasolulokeron solut ja ECM), että abioottisia tekijöitä (erityisesti hypoksia); vaikkakaan tähän kantasolulokeroon kuuluvien komponenttien määrästä tai identiteetistä ei olla täysin yksimielisiä, tutkimustulosten puoltaessa eriäviä näkemyksiä (Pollard & Kranc, 2010; Sánchez-Aguilera & Méndez-Ferrer, 2016). CXCR4/CXCL12 signaloinnin on kuitenkin osoitettu olevan merkittävässä roolissa HSC solujen ja luuytimen kudossympäristön välisen kontaktin luomisessa (Moll & Ransohoff, 2010) CXCR4 reseptorin inhibiittorin AMD3100:n toimiessa HSC solujen mobilisaatiota ajavana tekijänä (Broxmeyer et al., 2005). Allocca et al. osoittivat rintasyövän metastaatista lokeron ja HSC kantasolulokeron mahdollisen päällekkäisyyden luumetastasoivan rintasyövän hiirimallilla. Kun hiiren HSC soluja mobilisoitiin ensin AMD3100:lla, havaittiin jälkepäin injektoidujen rintasyöpäsolujen kolonisaation kasvavan luiden trabekulaarisilla alueilla (Allocca et al., 2019); samoin kuin eräässä eturauhassyöpätutkimuksessa oli aiemmin todettu (Shiozawa et al., 2011). CXCR4/CXCL12 signaloinnin ajatellaan edistävän selviytymistä aktivoimalla Src ja PI3K/Akt signaalintireittejä rintasyöpäsoluissa (Gomis & Gawrzak, 2017). Osteotrooppisen rintasyövän tapauksessa vahvan Src signaloinnin ilmentäminen on liitetty pitkittyneeseen latenssiaikaan etäpesäkkeen muodostumisessa luuhun, mutta ei muihin kudoksiin (Zhang, X. H. et al., 2009). Syöpäsolun oma Src ilmentäminen tehostanee valmista yhteyttä CXCR4/CXCL12 signaalintireitin aktivoituessa (Giancotti, 2013). Lisäksi basaalityyppisen emokasvaimen kudossympäristön (TME) syöpäliittännäisten fibroblastien (engl. cancer-associated fibroblast, CAF) runsaan CXCL12 ja IGF-1 erityksen on esitetty aiheuttavan valintapaineen näitä tekijöitä suosivia rintasyöpäsoluja kohtaan; lisäten näin luuytimessä selviytymiselle suotuisia ominaisuuksia primaarikasvaimen syöpäsolupopulaatiossa (Zhang, X. H. et al., 2013). Verisolujen kantasolulokeroiden on osoitettu olevan myös esimerkiksi hyaluronaattirikkaita (Stern, 2008). Hyaluronaattiin kiinnitytään pääasiallisesti CD44 glykoproteiinin avulla, ja tätä tarttumareseptoria pidetään myös yhtenä kantasolumarkkereista niin normaaleissa kantasoluissa, kuin syöpäsolu vastinpareissaan; rintasyövän kantasolut mukaan lukien (Misra et al., 2011; Zöller, 2015). HA siis edistää CD44+ HSC solujen kiinnittymistä kantasolulokeron vaikutuspiiriin, mutta toisaalta HA toimii myös itse erilaistumista estävänä tekijänä (Stern, 2008). Myös metastaseja muodostavilla syöpäsoluilla nähdään CD44:n ilmentymistä (Baccelli & Trumpp, 2012). Chen et al. osoittivat luumetastaasi hiirimallilla ja *in vitro* tutkimuksilla HA-CD44 vuorovaikutuksen edistävän rintasyöpäsolujen kasvua ja luun hajotusta. HS5 luuytimen stroomasolulinjan erittämän HA:n vaikutus rintasyöpäsolujen toimintaan osoitettiin olevan

selviytymistä ja proliferaatiota edistävän PI3K:n sekä solusyklin etenemiseen vaikuttavien Cyclin D1:n ja CDK-4:n välittämä (Chen et al. 2020).

Rintasyöpäsolujen on osoitettu useissa hiirimalleja käyttäneissä tutkimuksissa paikantuvan erityisesti luiden metafyysiksen alueelle, joka on rikas niin verisuonituksen kuin osteoblastienkin suhteen (Haider et al., 2020). Vaikkakin rintasyöpälähtöiset luumetastaasileesiöt ovat pääasiassa osteolyyttisiä, Wang et al. osoittivat luun hajotusvaihetta edeltävän mikrometastaattisen vaiheen, jossa merkit viittasivat osteogeneesiin luun hajotuksen sijasta (Wang et al., 2015). Hyödyntämällä *in vitro* - ja hiirimallia, mikrometastaasin välittömässä läheisyydessä nähtiin alkalisen fosfaatin (engl. Alkaline Phosphatase, ALP) ja tyypin 1 kollageeni (Coll) positiivisten solujen rikastuma verrattuna terveeseen luuhun. Solujen pääteltiin olevan osteoidia tuottavia Runx2 ja Osterix (Osx) transkriptiotekijöiden ilmentämisen takia. Rintasyöpäsolujen ja osteogeenisten solujen osoitettiin muodostavan keskenään heterotyyppisiä vyöliitoksia E-kadheriinin (E-cad) ja N-kadheriinin (N-cad) välityksellä. Liitoksen postuloitiin tukevan syöpäsolujen selviytymistä sekä kasvua Akt/mTOR signaalintireittiä aktivoimalla; tarkemman mekanismin jäädessä kuitenkin pimentoon. Wang et al. postuloivat mTOR signaalintireitin johtavan yksittäisten syöpäsolujen kehittymiseen mikrometastaaseiksi. Syövän etäpesäkkeiden arvellaan voivan pysyä mikrometastaaseina pitkiäkin aikoja aiheuttamatta minkäänlaisia oireita, ennen kehittymistään varsinaisiksi makrometastaaseiksi (Aguirre-Ghiso, 2007). Tämän lisäksi mTOR signaalintireitti oli aiemmin liitetty endokriiniterapiaresistenttiyteen ER+ rintasyövissä (Wang et al., 2015). N-cad+ osteogeenisten solujen on esitetty osallistuvan myös HSC solujen säätelyyn, vaikkakin näiden merkitys säätelyssä on ollut pitkään kiistanalainen (Ho & Méndez-Ferrer, 2020). Esimerkiksi Zhao et al. kuitenkin esittivät erityistä varasto-HSC populaatiota (engl. reserve HSC, rHSC) ylläpitävän N-cad+ stroomasolujen, jotka ilmensivät sekä osteo- (esimerkiksi Colla1 ja Runx2), mutta myös kondro- ja adipogeenisille soluille tyypillisiä markkereita. Lisäksi kyseisten N-cad+ solujen transkriptomista löytyi yhtäläisyyksiä sekä CAR, LepR+ että Nestin+ mesenkymaalisten stroomasolupopulaatioiden kanssa (Zhao, M. et al., 2019). mTOR signaalintireitin on myös esitetty olevan tärkeä HSC solujen ylläpitoon vaikuttava tekijä (Ghosh & Kapur, 2017). Mikäli HSC soluja ja rintasyöpäsoluja tukevan osteogeenisen mikroympäristön kohdalla puhutaan samankaltaisesta tai samasta solupopulaatiosta kehittyneestä alueesta, vaatii tarkennusta (Bianco, 2011; Wang et al., 2015).

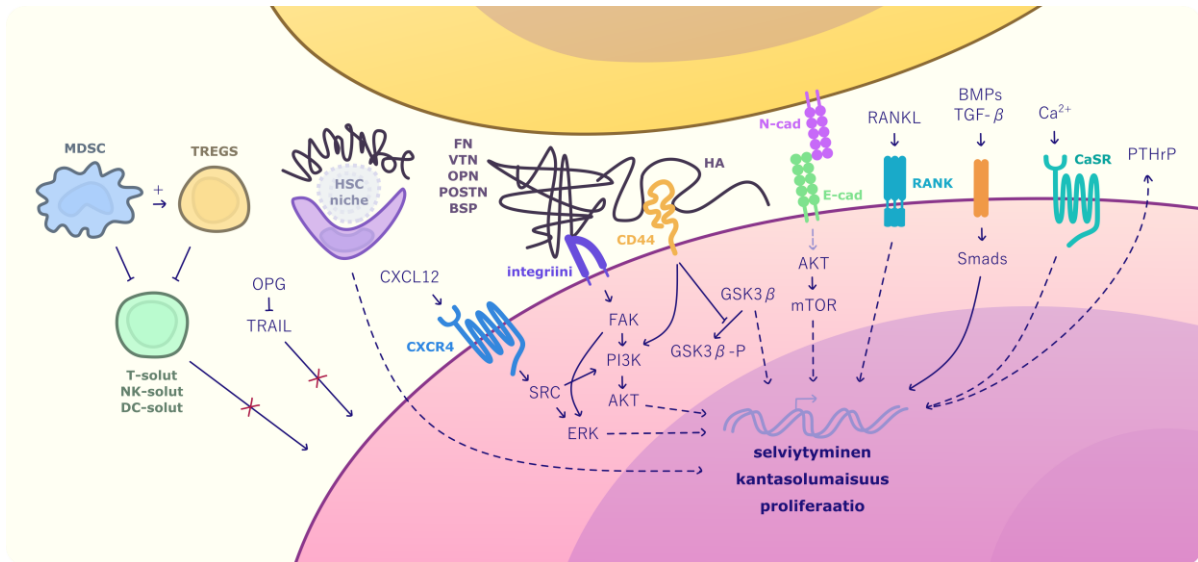
Osteoblastilinjan solujen on osoitettu vaikuttavan syöpäsoluihin myös parakriinisen signaalintireitin välityksellä. Esimerkiksi Tumor necrosis factor-Related Apoptosis-Inducing Ligand (TRAIL) tekijä ilmentyy runsaana luumetastaasien yhteydessä, ja toimii indusoimalla

solukuoleman syöpäsoluissa. Luumetabolian säätelyyn osallistuva osteoblastilinjan solujen erittämä Osteoprotegerin (OPG) estää osteoklastien erilaistumisen lisäksi TRAIL tekijän indusoiman apoptoosin syöpäsoluissa; edistään näin rintasyöpäsolujen selviytymistä luuytimen kudossympäristössä. Toisaalta rintasyöpäsolujen on osoitettu myös itse tuottavan OPG:tä (Weichhaus et al., 2015).

Paikallinen immuunipuolustus tuhoaa valtaosan tiensä luuytimeen löytäneistä syöpäsoluista (Ren et al., 2015). Immuunipuolustusta lamaavien solujen, kuten myeloidisten vaimentajasolujen (engl. myeloid-derived suppressor cell, MDSC) ja säätelijä-T-solujen (engl. regulatory T cell, TREG) kertyminen luuytimeen kuitenkin kuuluu edenneen luumetastasoinnin tunnusmerkkeihin. Monet luumetastaasien kehittymisen aikana strooma- tai syöpäsolujen toimesta eritetyt ja luun soluväliaineesta vapautuneet tekijät³ johtavat MDSC solujen määrän nousuun ja aktivointiin. MDSC solut puolestaan aktivoivat TREGS solujen monistumista, ja vaikuttavat luuston etäpesäkkeen muodostumiseen myös esimerkiksi osteoklastogeneesiä aktivoimalla sekä helpottamalla syöpäsolujen ekstravasaatiota verisuonistoa muovaamalla. Luuytimessä vallitseva immuunipuolustus on myös alueittain erityisen heikko MDSC ja TREGS solujen toiminnan vuoksi HSC solujen ylläpidon turvaamiseksi; edistään samalla luuytimeen saapuneiden syöpäsolujenkin kasvua (Baschuk et al., 2015). Toisaalta syöpäsoluilla on myös sisäisiä keinoja immuunipuolustuksen vasteelta säästymiseen kappaleessa 2. mainitun luumimikoinnin vaikutuksen lisäksi. Esimerkiksi korkea DKK1 ilmentäminen uinuvissa syöpäsoluissa vaimentaa Wnt signaaloinnin estämisen kautta proliferaatioon liitettävien antigeenien ilmentämistä; piilottaen näin luuytimeen päässeet solut luonnollisilta tappajasoluilta (engl. Natural Killer cells, NK cells) (Malladi et al., 2016).

Kuvassa 4. kootaan esille nostettuja, rintasyöpäsolun selviytymiseen vaikuttavia luuytimen kudossympäristöperäisiä tekijöitä.

³ Esimerkiksi interleukiini 4 (IL-4), interleukiini 13 (IL-13), Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF), Granulocyte-Macrophage Colony-Stimulating Factor (GM-CSF), Granulocyte-Colony-Stimulating Factor (GCSF) ja TGF- β (Baschuk et al., 2015).



Kuva 4. Luuytimen kudossympäristö voidaan monin tavoin nähdä ihanteellisena turvapaikkana emokasvaimestaan irronneille rintasyöpäsoluille. (Vasemmalta oikealle) Verenkantasolujen ylläpidon suojaamiseksi luuydin on paikoittain heikko immuunipuolustukseltaan MDSC ja TREG solujen toiminnan kautta, joka hyödyttää myös syöpäsoluja. Osteoblastilinjan solujen erittämä OPG estää TRAIL tekijä välitteisen apoptoosin syöpäsoluissa. Rintasyöpäsolut hakeutunevat luuytimeen CXCR4/CXCL12 signalointia hyödyntäen, mutta signalointireitti myös tukee syöpäsolujen selviytymistä Src ja PI3K/Akt välitteisesti. CXCR4/CXCL12:n tukiessa verenkantasolujen hakeutumista kantasolulokeroihinsa, voidaan myös CXCR4+ rintasyöpäsolujen näin ollen ajatella pääsevän HSC kantasolulokerojen vaikutuspiiriin. Erilaiset ECM-integriini-FAK välitteiset signaalit tukevat rintasyöpäsolujen kasvua PI3K/Akt:n kautta. HA-CD44 vuorovaikutus tukee rintasyöpäsolun selviytymistä PI3K/Akt välitteisesti, mutta ylläpitänee myös syöpäsolun kantasoluominaisuuksia esimerkiksi estämällä GSK3 β tekijän fosforylaation (Chanmee et al., 2015). N-kadheriini/E-kadheriini liitos osteogeenisten solujen kanssa aktivoi selviytymistä ja proliferaatiota edistävää mTOR signalointia rintasyöpäsoluissa. RANK/RANKL signaloinnin, TGF- β :n ja BMP proteiinien on esitetty aktivoivan EMP ohjelmia ja tukevan näin rintasyöpäsolujen kantasolumaisuutta. BMP-2:n on osoitettu lisäksi indusoivan EMT:n aktivoinneissa rintasyöpäsoluissa luumimikointia, joka edistää esimerkiksi immuunipuolustukselta suojautumista. CaSR/Ca²⁺ välitteisen PTHrP:n erityksen aktivoinnin rintasyöpäsoluissa on esitetty tukevan samalla näiden selviytymistä. PTHrP toisaalta myös lisää RANKL eritystä osteoblasteista. DC: dendriittisol, ECM: soluväliaine, EMP: epiteelimesenkyymi-muovautuvuus, EMT: epiteeli-mesenkyymi-muunnos, HA: hyaluronaatti, MDSC: myeloinen vaimentajasolu, NK: luonnollinen tappajasolu, TREG: säätelijä-T-solu.

3.3. Uinuminen ylläpitoon ja kumoamiseen vaikuttaa keskeisesti rintasyöpäsolumen kokema kudosten ympäristö luuytimessä

Vaikka emokasvaimestaan irronnut syöpäsolu onnistuisikin löytämään yhteensopivia kiinnittymisvuorovaikutuksia, säästymään immuunipuolustuksen vasteelta ja jopa kehittymään mikrometastaaseiksi⁴ luuytimessä; varsinainen luustoetäpesäke ei tästä huolimatta välttämättä koskaan muodostu. Yksittäisiä syöpäsoluja on voitu havaita luuydinnäytteissä lähes kaikissa eri syöpätyypeissä; vaikkakin vain harva näistä ilmentää varsinaisia etäpesäkkeitä luustossa. Myös luumetastaaseja tyypillisesti muodostavan rintasyövän yhteydessä nähdään yksittäisiä syöpäsoluja luuytimessä huomattavasti useammin, kuin metastaasileesioita. Toisaalta joissakin tapauksissa primaarikasvaimen hoitojen jälkeen kuluu vuosia, ennen kuin etäpesäkkeiden kehittyminen käynnistyy. Näin ollen syöpäsolumen kyvyn alullepanna sekundaarisen kasvaimen muodostuminen voidaan katsoa olevan merkittävin tekijä luumetastaasien muodostuksessa (Aguirre-Ghiso, 2007; Esposito et al., 2018).

Viiveaikana – ennen etäpesäkkeen muodostukseen ryhtymistään – luuytimeen saapuneiden syöpäsolumen sanotaan olevan lepotilassa tai uinuvan (engl. dormancy) (Aguirre-Ghiso, 2007). Uinumisvaiheen kesto vaihtelee rintasyöpätyypeittäin: Luminaalisen A ja B tyypin rintasyöpien mahdollinen taudin metastaattinen uusiutuminen (engl. metastatic relapse) nähdään keskimäärin 10 vuotta alkuperäisestä diagnoosista, kun taas vastaava latenssiaika basaalityypisessä syövässä on 5 vuotta. Myös ER statuksella nähdään tilastollinen merkitys viivästyneeseen etäpesäkkeen muodostumiseen: ER- kasvaimien yhteydessä mahdollinen etäpesäke havaitaan yleensä viiden vuoden sisällä syövän diagnoosista ja vastaavasti ER+ kasvaimilla etäpesäkkeiden muodostuminen voi kestää jopa 10–20 vuotta primaarisyövän hoitojen päättymisestä (Kennecke et al., 2010). Syöpäsolumen uinuminen on esimerkiksi ehdotettu olevan luonnollinen vaste sopivien mitogeenisten signaalien puutteeseen tai solujen kyvyttömyyteen mukautua uuteen elinympäristöönsä (Lambert et al., 2017). Toisaalta syöpäsolumen on myös esitetty uinuvan jo primaarikasvaimesta irrotessaan (Yang, X. et al., 2018) tai vaipuvan uinuvaan tilaan erilaistuessaan (Aguirre-Ghiso, 2007). Syöpäsolumen sisäiset uinumista ylläpitävät keinot liittyvät yleensä erilaisiin stressivasteisiin (Giancotti, 2013). Huomattavasti suurempi määrä tutkimustuloksista on kuitenkin korostanut syöpäsolumen mikroympäristöstään saamien signaalien merkitystä uinuminen säätelyssä (Esposito et al., 2018; Risson et al., 2020). Solutasolla uinumisilmiön uskotaan johtuvan syöpäsolumen

⁴ Mikrometastaaseiksi luokitellaan etäpesäke, jonka solumassan halkaisija on 0,2–2 mm välillä. Tätä pienemmät etäpesäkkeet luokitellaan soluryhmiksi tai yksittäisiksi soluiksi (Amin et al., 2017).

sitomisesta solusyklin lepotilaan G0 (engl. quiescence). Vanhentuneiden ja viallisten solujen sekä mutatoituneiden syöpäsolujen kasvua rajoitetaan keskeyttämällä solusykli peruuttamattomasti säätelykohdassa G1, G1/S tai G2. Tätä solun kasvua estävää tilaa kutsutaan seneskenssiksi (engl. senescence) ja se johtaa poikkeuksesta solukuolemaan (Terzi et al., 2016). Solusyklin säätelykohtaan G0/G1 pysähtyminen on puolestaan mahdollista kumota, jonka ansiosta uinuva syöpäsolu kykeneekin sopivan signaalin saadessaan jatkamaan solusykliään. Yleisimpien syöpähoitojen kohdistuessa paljon jakautuviin soluihin, G0 vaiheiset uinuvat syöpäsolut välttävät lääkkeiden tehon. PI3K/AKT signaalintireitin vaimennus sekä suurentunut p38 aktiivisuus ja alentunut ERK aktiivisuus johtanee uinumistilan saavuttamiseen. Lisäksi uinuvassa tilassa olevan syöpäsolun proliferaatiomarkkerin Ki67 on esitetty ali-ilmentyneen (Gomis & Gawrzak, 2017). Myös tuumorimassan voidaan sanoa uinuvan; tällöin mikrometastaasin nettokasvu pysyy nollana, immuunipuolustuksen ja riittävän verisuonituksen puutteesta johtuvan apoptoosin tuhotessa syöpäkudosta samaan tahtiin kuin uutta muodostuu (Aguirre-Ghiso, 2007; Nishida et al., 2006).

Ovatko etäpesäkkeen muodostamiseen tarvittavat ominaisuudet invaasio-metastaasi-kaskadin (Kuva 1) läpikäyneissä syöpäsoluissa valmiina, vai saadaanko ne vasta kohdekudoksessa tai matkalla sinne, ei ole selvää. Jopa paikallisen duktaalisen rintasyövän yhteydessä on voitu havaita rintasyöpäsoluja luuydinnäytteissä, joten syöpäsolujen irtoaminen emokasvaimesta voi tapahtua jo hyvin varhaisessa vaiheessa primaarikasvaimen muodostusta (Sänger et al., 2011). Etäpesäkkeen muodostus voidaankin tästä syystä nähdä rinnakkaisena prosessina primaarikasvaimen kehittymiselle, eikä syövän kehityskaaren loppuhuipentumana. Vaikkakin rintasyövän etäpesäkkeiden on esitetty joissakin tutkimuksissa olevan geneettisesti monimuotoisempia varhaisen vaiheen primaarikasvaimiin verrattuna⁵ (Bertucci et al., 2019); tiettyjä, vain metastasointia ajavia mutaatioita (engl. driver mutation) ei ole löydetty (Celià-Terrassa & Kang, 2016). Syöpäsoluille ominainen genomien epästabiilisuus (engl. genomic instability) vaikuttanee myös etäpesäkkeen muodostumiseen (Jolly et al., 2017) ja lisäksi syöpäsolujen on osoitettu keräävän epigeneettisiä muutoksia vasteena ympäristöstään saamiin signaaleihin metastasointi prosessin edetessä (Celià-Terrassa & Kang, 2016). Primaarikasvaimen kehittymistä uskotaan ajavan monessa syöpätyypissä syöpäsolupopulaation, jolla on kantasolumaisia ominaisuuksia (Visvader & Lindeman, 2008). Edellä mainittujen syövän kantasolujen (engl. cancer stem cell, CSC) tai tuumorin alkusolujen

⁵ Toisaalta toiset ovat puoltaneet päinvastaista ilmiötä, ks. esim. Ghajar, 2015.

(tumor initiating cell, TIC)⁶ ja metastaasin muodostamiseen kykenevien solujen (engl. metastasis initiating cell, MIC) välillä on nähtävissä yhtäläisyyksiä: molemmat kykenevät tuumorin muodostamiseen, ilmentävät merkkejä muovautuvuudesta epiteeliaalisen ja mesenkymaalisen fenotyypin välillä (engl. epithelial-mesenchymal-plasticity, EMP) sekä voivat olla uinuvia tai hitaasti jakautuvia. Rintasyövän MIC solujen on lisäksi esitetty ilmentävän kantasolumaisuuden markkereita (CD44^{korkea}/CD24^{matala} ja/tai korkea ALDH aktiivisuus). MIC solujen onkin ehdotettu olevan primaarikasvaimen TIC solujen alapopulaatio⁷ (Baccelli & Trumpp, 2012; Lu, W. & Kang, 2019; Luo, M. et al., 2015; Pio et al., 2017). Toisaalta syöpäsolujen kantasolumaisuuden on myös esitetty olevan dynaaminen ominaisuus (Marjanovic et al., 2013). Luuytimessä uinuvien – ja mahdollisesti myös aikaisessa vaiheessa emokasvaimestaan irronneiden – syöpäsolujen uudelleen aktivoitumista ei ole vielä suoranaisesti onnistuttu todistamaan todelliseksi syyksi metastaasin muodostumiseen. Kuten kappaleessa 1. mainittiin, yksittäisten syöpäsolujen löytyminen luuydinnäytteistä kuitenkin ennustaa myöhempää metastasointia potilailla. Luuytimeistä eristettyjen syöpäsolujen on myös osoitettu kykenevän jakautumaan *in vitro* ja muodostamaan kasvaimia muihin kudoksiin hiirimalleissa, vaikka nämä pysyisivät uinuvina luuytimen kudossympäristössä (Ghajar, 2015; Suva et al., 2009).

Invaasiokykyään lisätäkseen ja levitäkseen ympäröivään kudokseen epiteeliä tukevan tyvikalvon lävitse, karsinoomasolujen on esitetty aktivoivan alkionkehityksestä tutun EMT ohjelman (Lambert et al., 2017) (Kuva 1). EMT:n kumoamisen vaatimus etäpesäkkeen muodostumiseksi on perusteltu etäpesäkkeiden epiteelisolumarkkerien ilmentämisellä, sekä EMT:n kasvukykyä alentavalla vaikutuksella (Brabletz, 2012a; Jolly et al., 2017). Tämän käänteisen prosessin – MET:n – ajatellaan EMT:n tavoin olevan vaste syöpäsolun saamille signaaleille elinympäristöstään; korostaen näin syöpäsolun kussakin vaiheessa tuntemaan mikroympäristön merkitystä metastasointi prosessin edetessä (van der Pluijm, 2011). Kuten kappaleessa 3.2. jo mainittiin, EMT:n kautta mesenkymaalista luonnetta saaneen karsinoomasolun on esitetty saavan samalla myös kantasolumaisia ominaisuuksia, sekä vaipuvan uinuvaan tilaan. Emokasvaimestaan irronneiden rintasyöpäsolujen voidaankin ajatella päätyvän luuytimeen valmiiksi uinuvina (Weidenfeld & Barkan, 2018). Toisaalta uinuminen, kantasoluominaisuuksien indusointi ja EMT:n aktivointi saattavat olla myös toisistaan erillisiä tapahtumia (Brabletz, 2012a). Kantasoluominaisuuksien indusoimisen on

⁶ Huomioitakoon kuitenkin, että CSC ja TIC eivät välttämättä tarkoita samaa solupopulaatiota, ks. esim. Rycaj & Tang, 2015.

⁷ Liikkumiskykyiset tai “muuttavat” syövän kantasolut (engl. migrating cancer stem cells) (Brabletz et al., 2005).

esimerkiksi osassa tutkimuksista esitetty aktivoivan syöpäsolut etäpesäkkeen muodostukseen (Weidenfeld & Barkan, 2018). Joka tapauksessa, kuten edellä mainittiin, EMP:n tavoin syöpäsolun saamien ulkoisten signaalien nähdään olevan tutkimustulosten valossa hyvin merkittävä myös uinumisen sekä kantasoluominaisuuksien ylläpidossa ja säätelyssä (Esposito et al., 2018; Risson et al., 2020). Pitkän latenssiajan vuoksi rintasyöpäsolujen uinumista tukevan kudostympäristön (uinumislokero tai lepolokero, engl. dormant niche) (Ghajar, 2015) voidaan olettaa olevan verrattain stabiili, ja uudelleen aktivoitumisen onkin arveltu johtuvan muutoksesta syöpäsoluun vaikuttavassa mikroympäristössä (Lambert et al., 2017). Mikäli muuntunut mikroympäristö on yksistään riittävä alullepannukseen syöpäsolun aktivoitumisen, on kiistanalainen kysymys. Syöpäsolun aktivoituminen lienee todennäköisimmin yhteistulos solun sisäisistä ominaisuuksista, mahdollisten (epigeneettisten) mutaatioiden hankinnasta ja kasvun sallivasta ympäristöstä (Byrne et al., 2019; Gancotti, 2013).

Vaikkakin jotkin tutkimustulokset puoltavat EMT:stä tai yleisesti solun (fenotyypin) muovautuvuudesta (engl. cellular plasticity) riippumattonta etäpesäkkeen muodostumista, EMP ilmiö voidaan nähdä välttämättömäksi etäpesäkkeen muodostumiselle ainakin yhdessä metastasoinnin muodoista (Brabletz, 2012b; Jolly et al., 2017; Lambert et al., 2017). Esimerkiksi eräässä mallissa on esitetty EMT:n avulla levinneiden karsinoomasolujen läpikäyvän uudessa kudostympäristössään ensin MET:n asettuaan uuteen kudostympäristöönsä ja saavuttaakseen mikrometastaattisen uinumisen, mutta myöhemmin aktivoivan (taas) osittaisen EMT ohjelman (engl. partial EMT) kasvaakseen makrometastaaseiksi (Yang, X. et al., 2018). EMT:tä ajavia tekijöitä tunnetaan huomattava määrä; MET prosessin säätelyn ollessa vielä valtaosin pimennossa (Esposito et al., 2019; Ranganathan et al., 2020). Kuten edellä mainittiin, karsinoomasolujen on esitetty saavan kantasolumaisia ominaisuuksia EMT ohjelmia aktivoimalla. Vastavuoroisesti epiteelimuotoisena tärkeitä kantasolumaisuuteen ja metastasointiin yhdistettyjä tekijöitä vaimennetaan; luoden näin kuvan MET prosessin aktivoinnin ja kantasolumaisuuden ylläpidon olemisesta toisensa poissulkevia ilmiöitä. Esposito et al. osoittivat kuitenkin MET:n aktivoinnin sekä kantasoluominaisuuksien indusoinnin voivan tapahtua samanaikaisesti. Luuytimen stroomasolujen ilmentämän E-selektiinin sekä osteotrooppisen rintasyöpäsolun ilmentämien Fut 3/6 ja Glg-1:n välisen vuorovaikutuksen osoitettiin indusoivan MET ohjelman rintasyöpäsoluissa etäpesäkkeen muodostumiseksi. Tämä ei-kanoninen MET aktivoi Wnt signaaloinnin kantasoluominaisuuksien lisäämiseksi Sox2/9 ilmentämisen kautta. Lisäksi havaittiin positiivinen takaisinkytkentä edellä mainitun MET ohjelman käynnistämisen ja syöpäsolun Fut 3/6:n ja Glg-1:n ilmentämisen välillä (Esposito et al., 2019).

Normaali luun uusintaminen pohjautuu luuta hajottavien osteoklastien ja luuta muodostavien osteoblastien tarkasti säädeltyyn yhteistyöhön (Kenkre & Bassett, 2018). Mikäli normaalin luun uudismuodostustoiminnan sattuminen syöpäsolun uinumista tukevalle alueelle on yksistään tarpeeksi herättääkseen uinuvat syöpäsolut, ei ole varmaa (Lawson et al., 2015). Toisaalta luuytimeen asettuneet syöpäsolut voivat myös itse tehostaa valmista luun hajotusmekanismia. Osteoklastogeneesin stimuloimisen on esitetty johtavan mikrometastaasina uinuvan rintasyöpäkasvaimen kehittymiseen makrometastaasiksi ksenografti hiirimallissa. Kuten kappaleessa 3.2. jo mainittiin, rintasyöpäsolujen ilmentämän VCAM-1:n on osoitettu houkuttelevan sekä sitovan VLA-4 positiivisia osteoklastien esiasteita, avustaen näin niiden fuusiota kypsiksi luuta hajottaviksi osteoklasteiksi (Lu, X. et al., 2011). VCAM-1:n ilmentäminen liitettiin samassa tutkimuksessa Nuclear Factor κ B (NF- κ B) signalointiin; puoltaen näin myös tulehduksen mahdollista roolia uinuvien syöpäsolujen aktivoinnissa (Lu, X. et al., 2011; Roca & McCauley, 2015). Esimerkiksi osteoblastien erittämä TGF- β 1 on yksi runsaimmista luun soluväliaineeseen hautautuneista kasvutekijöistä, TGF- β 1 vapautuu sekä aktivoituu luun hajotuksen yhteydessä. TGF- β 1 kuuluu myös EMT:tä aktivoiviin tekijöihin (Moustakas & Heldin, 2014), ja sen on osoitettu vaikuttavan uinuvien rintasyöpäsolujen uudelleen aktivoitumiseen. Lisäksi luukudoksesta vapautunut TGF- β 1 aktivoi rintasyöpäsoluja tuottamaan Smad sekä MAPK p38 välitteisesti PTHrP:ää, joka puolestaan stimuloi osteoklastogeneesiä – ja näin luun hajotustoimintaa – osallistuen osteolyyttisen noidankehän muodostumiseen (Buijs & van der Pluijm, 2009).

Luukudoksen ja luuytimen strooman solujen vanhenemiseen liittyvät muutokset vaikuttavat luun ja luuytimen toimintaan (Farr & Khosla, 2019; Lazzari & Butler, 2018). Luo et al. osoittivat senescenttien osteoblastien tehostavan osteoklastogeneesiä ja näin luun hajotustoimintaa IL-6 välitteisesti luumetastaasihiirimallissa. Senescenttisijohdetun IL-6:n inhibiointi myös laski NT2.5 rintasyöpäsolujen hakeutumista luun ympäristöön. Vanhenevien osteoblastien postuloitiin muodostavan metastasoinnille suotuisan ympäristön näiden vaikutuspiiriin hakeutuville syöpäsoluille (Luo, X. et al., 2016). Esimerkiksi IL-6/JAK/STAT3 signaloinnin on esitetty olevan olennainen kantasoluominaisuuksien ylläpidolle karsinoomissa (Handle et al., 2016). Solujen vanhenemiseen yhdistetty sekretomi (engl. senescence-associated secretory phenotype, SASP tai senescence-messaging phenotype) pitää sisällään monia tulehdustilaa ylläpitäviä tekijöitä. IL-6:n lisäksi myös esimerkiksi fibronektiinin erityis vanhenevissa soluissa kasvaa, ja näin edistää syöpäkasvaimen kehittymisen sallivan mikroympäristön muodostumista luuytimessä (Sowder & Johnson,

2019). SASP:n on osoitettu stimuloivan epiteelisolujen kasvua sekä normaalitilassa että karsinoomissa (Coppé et al., 2010).

Intravitaali kuvantamista hyödyntäen, rintasyöpä ksenografti hiirimallissa osoitettiin aktiivisten ja uinuvien rintasyöpäsolujen paikantuvan luuytimessä erilleen toisistaan (Price et al., 2016). Price et al. havaitsivat valtaosan uinuvista rintasyöpäsoluista paikantuvan E-selektiini ja CXCL12 rikkaalle perisinusoidaaliseen alueelle. Myös potilasnäytteissä todettiin mikrometastaasien löytyvän pääasiallisesti CXCL12+ verisuonituksen lähetyviltä. E-selektiinin oletetaan olevan tärkeä tekijä rintasyöpäsolujen siirtymiselle hiusuoniverkostosta luuytimeen. CXCR4/CXCL12 signaalinnin osoitettiin puolestaan vaikuttavan merkittävästi rintasyöpäsolun pysymiseen luuytimessä, koska CXCR4:n inhibiittori vapautti rintasyöpäsolut verenkiertoon. Ghajar et al. esittivät endoteelisolujen ylläpitävän rintasyöpäsolujen uinumista erittämänsä trombospondiini-1:n (TSP-1) avulla. Vuorovaikutus endoteelin kanssa osoittautui myös suojaavan syöpäsoluja kemoterapialta riippumatta siitä, missä kohdassa solusykliä syöpäsolu oli. Lisäksi tehtiin havainto perivaskulaarisen alueen kaksoisröölillä toisaalta uinumista tukevana alustana stabiilissa tilassaan, mutta päinvastaisesti verisuonien uudismuodostuksen (angiogeneesi) yhteydessä syöpäsolujen kasvua tukevana mikroympäristönä. Endoteelikärkisolujen (engl. endothelial tip cells) TSP-1:n ilmentäminen havaittiin alentuneeksi, mutta toisaalta pro-tuumorigeenisten peristiinien (POSTN) ja TGF- β 1:n ilmentyminen oli puolestaan korkea (Ghajar et al., 2013). POSTN:ää pidetään myös yhtenä tärkeänä kantasoluominaisuuksia ylläpitävänä tekijänä tämän tehostaessa Wnt signaalia syöpäsoluissa (Malanchi et al., 2011).

Mikäli usean vuoden hiljaiseloa ylläpitävältä mikroympäristöltä vaaditaan stabiiliutta, ja varsinaisten luuta muodostavien osteoblastien erilaistuessa vasteena luukudoksen muodostamisen tarpeeseen, muut osteoblastilinjan solut vaikuttavat todennäköisemmiltä ehdokkailta uinumista ylläpitäviksi soluiksi luun tuntumassa (Bianco, 2011; Kenkre & Bassett, 2018). Esimerkiksi luunpintaa rajaavat osteoblastilinjan solut (engl. bone lining cells, BLC) ilmentävät itsekin hiljentynyttä fenotyyppiä (Matic et al., 2016). Toisaalta, kuten kappaleessa 3.2. mainittiin, rintasyöpäsolujen mikrometastaaseja osoitettiin muodostuvan mikroympäristöissä, joissa havaittiin aktiivisen luun muodostuksen merkkejä (Wang et al., 2015). Lisäksi BLC soluja on myös ehdotettu luun uudelleenmuovaamisyksiköksi (engl. bone remodelling unit, BRU tai -compartment, BRC) rajaaviksi soluiksi⁸ (engl. canopy cells), ja

⁸ Toisaalta hiirissä näiden BRU ”katos- tai kuomusolujen” (ks. Kuva 2) on esitetty olevan makrofageja (engl. osteal macrophages, Osteomacs) (Sinder et al., 2015).

BRC mikroympäristön on arveltu toimivan otollisena paikkana luumetastaasien muodostukselle (Eriksen, 2010). Rintasyöpäsolujen on myös esimerkiksi osoitettu ”kouluttavan” kohtaamiensa osteoblasteja luuytimen kudostympäristössä, kun Kolb et al. havaitsivat erityisen, rintasyöpäsolujen kasvua vaimentavan Runx2+/OCN+/OPN+/IL-/αSMA- osteoblastipopulaation ilmenevän rintasyöpäsolujen vuorovaikutuksen jälkeen (Kolb et al., 2019). Lisäksi esimerkiksi uinuvien leukemiasolujen on esitetty paikantuvan OPN rikkaille alueille luun tuntumassa (Boyerinas et al., 2013). OPN:n on myös esitetty ylläpitävän rintasyöpäsolujen kantasolumaisuutta (Pio et al., 2017).

Osteoblastilinjan solujen lisäksi myös muiden mesenkymaalisten solujen on ehdotettu ottavan roolia rintasyöpäsolujen uinumisen säätelyssä luuytimen kudostympäristössä. Luuytimen mesenkyymaalisten kantasolujen tai – stroomasolujen (engl. mesenchymal stem cell tai -stromal cell, MSC) on eri tutkimuksissa osoitettu toimivan niin uinumista kuin aktivaatiotakin tukevilla rooleilla luuston etäpesäkkeiden muodostuksessa. Päinvastaisten tulosten arvellaan osaltaan johtuvan MSC solupopulaation heterogeenisyydestä (Zhang, W. et al., 2019). Luuytimen MSC solujen on esimerkiksi osoitettu lähettävän rintasyöpäsolujen uinumista edistävää mikro-RNA:ta (miR) sisältäviä ekstrasellulaarisia vesikkeleitä (EV). Esimerkiksi miR-23b:n yli-ilmentäminen liitettiin MARCKS geenin vaimennukseen, joka aktiivisena vaikuttaa niin solujen liikkumiskykyä kuin solusyklin etenemistäkin stimuloiden. Myös levinnyttä rintasyöpää sairastavien potilaiden luuydinnäytteissä havaittiin miR-23b:n yli-ilmentäminen yhdistettynä MARCKS:n vaimennukseen (Ono et al., 2014). Lisäksi rintasyöpäsolujen ja luuytimen stroomasolujen on osoitettu muodostavan *in vitro* olosuhteissa konneksiini 43:n välityksellä aukkoliitoksia toistensa välille, jonka kautta solut pystyivät vaihtamaan esimerkiksi miR:tä, joka aiheutti rintasyöpäsoluissa uinumisen ja aktivoitumisen syklisen vaihtelun (engl. cycling quiescence) (Walker et al., 2016). Nodre et al. esittivät HSC solujen säätelyyn osallistuvien periarteriolaaristen Nestin+/NG2+ mesenkymaalisten stroomasolujen edistävän myös rintasyöpäsolujen uinumista erittämällä TGF-β2:ta ja BMP-7:ta. Uinumisen osoitettiin johtuvan TGFBRIII ja BMPRII riippuvaisesta MAPK p38 välitteisestä p27-CDK:n estäjän induktiosta. Lisäksi Nestin+/NG2+ solujen vanhentumisesta johtuvien muutosten arveltiin toimivan rintasyöpäsolujen uinumisen kumoavana tekijänä (Nodre et al., 2020).

Kuten edellä ja kappaleessa 3.2. mainittiin, luuytimeen päätyneet syöpäsolut hyödyntänevät natiiveja veren kantasoluille kehittyneitä kantasolulokeroita selviytyäkseen uudessa ympäristössään. Uusiutumiskyvyn säästämiseksi, HSC soluja pidetään lepotilaisena odottamassa jakautumis- ja erilaistumiskäskyä verisolutarpeen niin vaatiessa. HSC

kantasolulokeroa muodostavien tekijöiden identiteetti sekä määrä on kiistanalainen. Yleiskäsitys kuitenkin on, että kantasolujen säätelyyn osallistuneen sekä vaskulaarinen että osteogeeninen komponentti (Sánchez-Aguilera & Méndez-Ferrer, 2016). Luuytimen stroomaa muodostavien retikulaaristen solujen (CAR solu) verkoston on myös ehdotettu toimivan yhtenä HSC kantasolulokerona (Nagasawa et al., 2011). Toisaalta luuydin voidaan nähdä myös jatkuvana perisinusoidaalista ja periarteriolaarisesta alueesta muodostuvana kaksiosaisena lokerona (Hira et al., 2017). Verisolujen on esitetty liikkuvan luuytimen anatomisten alueiden välillä (engl. trans-marrow migration) erilaistuessaan. Hiljentyneiden ja primitiivisimpien HSC solujen on ajateltu kiinnittyvän pääasiassa luun ja luuytimen rajapinnan osteogeenisille alueille, ja esiasteiden erilaistuessaan vaeltavan sitten lähemmäksi luuytimen keskustan runsasta verisuonitusta (Haylock & Nilsson, 2005; Kaplan et al., 2006). Huomioiden MIC solujen potentiaalisen ”unissakävelijä” luonteen (Brabletz et al., 2005), myös uinuvien syöpäsolujen kytkentä aktiivisiksi (engl. dormancy switch) voikin näin ollen olla yhteistulos kemotaktisesta migraatiosta ja erilaisten mikroympäristöjen vaikutuspiiriin pääsystä luuytimen sisällä.

Mikäli olemassa olevien HSC kantasolulokerojen tarjoamat vuorovaikutukset riittävät sellaisinaan syöpäsolujen aktiivisuuden säätelyyn on kiistanalaista. Schofieldin alkuperäistä hypoteesia tukien (Schofield, 1978), kantasolulokerojen kyvystä indusoida kantasolumuinaisuuksia jopa erilaistuneille soluille on kuitenkin saatu viitteitä (Ghajar, 2015). Lisäksi monien luumetastaaseja muodostavien syöpien vuorovaikutussuhteissa luuytimen kanssa on havaittu yhteneväisyyksiä HSC soluihin vaikuttavan kantasolulokeron solu-solu ja solu-ECM kontaktien kanssa (Esposito et al., 2018; Forest et al., 2013). Toisaalta muuntuneen kantasolulokeron on esitetty indusoivan CSC solujen muodostuksen tavallisista kantasoluista (engl. cancer-inducing niche) (Afify & Seno, 2019). Jo edellä esille nostettujen tekijöiden (kuten CXCR4/CXCL12, HA-CD44 ja N-cad⁺ stroomasolu kontakti) lisäksi, esimerkiksi Notch signaloinnin on osoitettu toimivan sekä HSC solujen, että MIC solujen säätelyssä; vaikkakin HSC solujen osalta Jagged-1/Notch:in merkityksen tärkeydestä ei olla täysin yhdenmielisiä. Poikkeava Notch signalointi on kuitenkin liitetty erilaisten verisairauksien kehittymiseen (Lampreia et al., 2017). Notch signaloinnin merkitys lienee myös paikkariippuvainen, Notch:iin liitetyn geeniprofiilin ilmentyessä juurikin luun tuntumaan sijoittuneissa, suuren itsensä uusintamiskyvyn omaavissa HSC soluissa trabekulaarisilla alueilla. Samoilla kiinnittymisalueilla osteoblastien Jagged-1 ilmentäminen osoitettiin korkeammaksi kuin muualla (Guezguez et al., 2013). Mikäli nämä Jagged-1^{korkea}/OPN⁺/Ox⁺ osteoblastit tai esiaste Jagged-1⁺ MSC solut (Guezguez et al., 2013) ja kappaleessa 3.2.

esitellyt, mahdolliset kolmipotenttiset N-cad⁺ stroomasolut kuuluvat samaan solupopulaatioon tai -linjaan vaatinee tarkennusta. Esimerkiksi N-cad⁺ stroomasolujen ja Osx⁺ osteoblastisten solujen on kuitenkin esitetty eriävän ainakin kemoresistenttisiltä ominaisuuksiltaan (Zhao, M. et al., 2019). Korkean Jagged-1:n ilmentämisen on osoitettu korreloivan luumetastaasien kehittymisen kanssa rintasyöpäpotilailla (Sethi et al., 2011) ja Jagged-1 on potentiaalisesti myös juuri osteotropismia ajava tekijä (Zhang, X. H. et al., 2009). Jagged-1 yli-ilmentymistä nähdään luustoon etäpesäkkeitä muodostavissa rintasyöpäsoluissa, ja lisäksi luun hajotuksessa vapautuva TGF- β lisää Jagged-1:n ilmennystä entisestään osteolyyttisten leesioden yhteydessä. Jagged-1 myös itse lisää luun hajotusta stimuloimalla IL-6:n eritystä osteoblasteissa, joka puolestaan aktivoi luuta hajottavien osteoklastien esiasteiden kypsymistä varsinaisiksi osteoklasteiksi; osallistuen näin osteolyyttisen noidankehän syntymiseen (Sethi et al., 2011). Syöpäsolujen ilmentämä Jagged-1 mahdollisesti myös laajentaa HSC soluja tukevaa kudossympäristöä; tukien näin syöpäsolujen kolonisaatiota luuytimeen (Sethi et al., 2011). Eräiden kemoterapioiden on myös osoitettu lisäävän Jagged-1:n ilmentymistä osteoblasteissa, jonka osoitettiin johtavan kemoresistenssin nousuun rintasyövän luumetastaasien yhteydessä Notch signalointia aktivoimalla (Zheng et al., 2017). Notch:n on esitetty olevan yksi pääasiallisista rintasyöpäsolun kantasolumaisuutta ajavista signalointireiteistä, mutta on toisaalta myös esitetty vaikuttavan syöpäkasvaimen angiogeneesikykyyn (Kontomanolis et al., 2018). Huomioiden HSC kantasolulokeron kartoituksen keskeneräisyyden, on näin ollen mahdotonta sanoa, mitkä vuorovaikutussuhteet todellisuudessa jaetaan HSC solujen kanssa ja mitkä ovat näiden säätelystä riippumattomia (Esposito et al., 2018; Zhang, W. et al., 2019). Esimerkiksi aiemmin mainittu HSC kantasolulokeron jako lepotilaa tukevaan osteogeeniseen alueeseen ja aktiiviseen proliferaatioon johtavaan vaskulaariseen alueeseen on haastettu tutkimuksissa, missä valtaosa sekä lepotilaisista, että aktiivisista verisolujen esiasteista on löydetty kiinnittyneinä vaskulaarisille alueille; kauemmaksi luun pinnan tuntumasta (Ho & Méndez-Ferrer, 2020; Kunisaki et al., 2013). Toisaalta kuten edellä mainittiin, rintasyöpäsolujen kyvystä vaikuttaa luuytimen stroomasolujen ominaisuuksiin on saatu viitteitä (Kolb et al., 2019). Mikäli rintasyöpäsolut vaikuttavat tällä tavoin uinumistaan säätelevän kudossympäristön muovaamiseen, olipa pohjarunkona sitten valmis kantasolulokero tai ei, vaatinee tarkennusta.

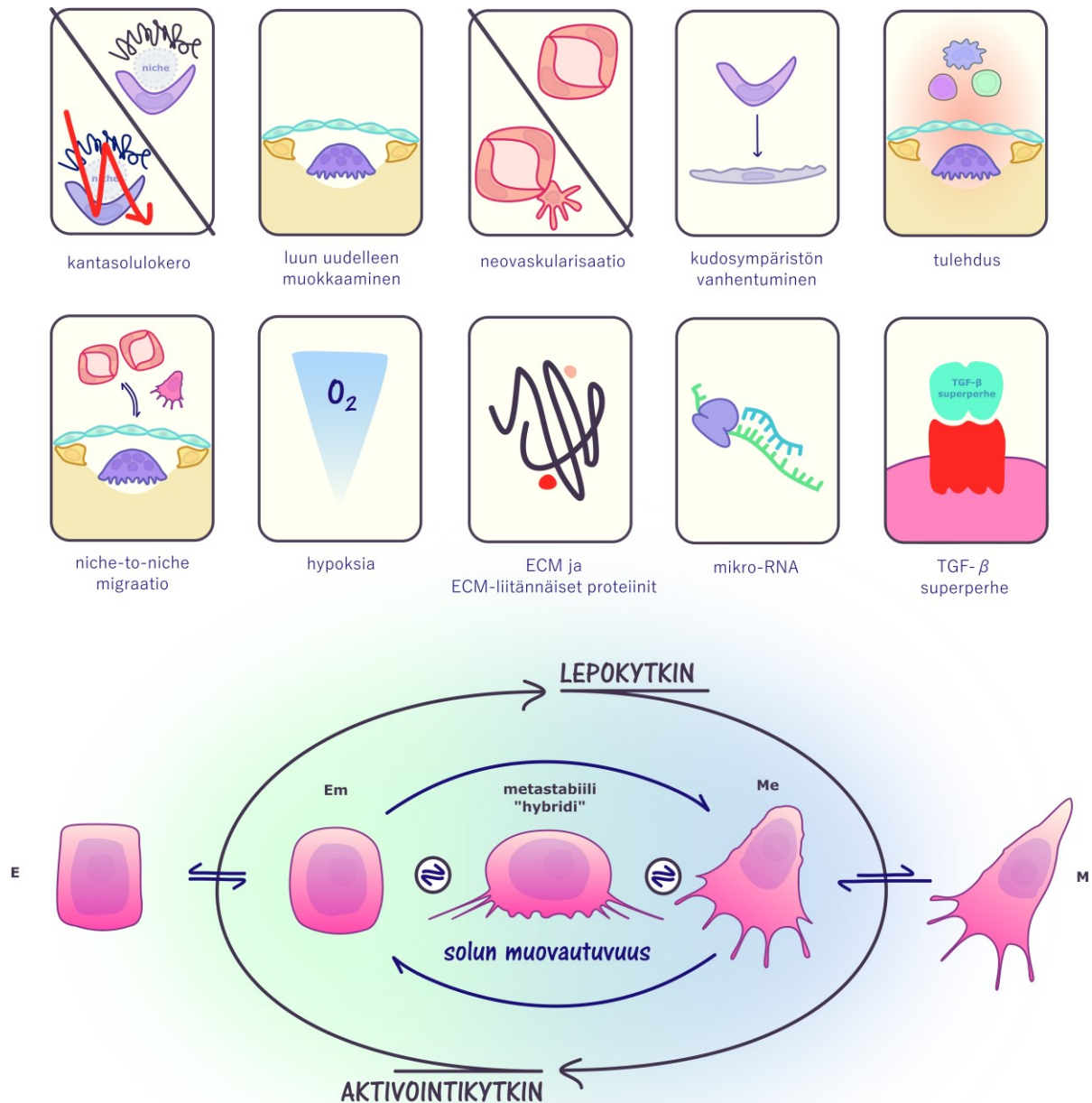
Kappaleessa 2. mainittiin syöpäsolujen esivalmistelevalle kohdekudosta kolonisaatiotaan helpottaakseen jo ennen uuteen ympäristöönsä saapumista. Kudossympäristön muovaaminen voi olla esimerkiksi verisuonten läpäisevyyden lisäämistä tai muutosten indusoimista kohdekudoksen strooman soluväliaineeseen (Peinado et al., 2017). Toisaalta natiivi ECM

koostumus myös vaihtelee kudostyyppistä toiseen ja saman kudostyypin sisällä (Frantz et al., 2010). Runsas Coll ja fibronectiini syöpäsolun mikroympäristössä korreloi negatiivisesti uinumisen kanssa (Barkan et al., 2010). Toisaalta, kuten kappaleessa 3.2. mainittiin, esimerkiksi fibronectiinin ja rintasyöpäsolun ilmentämän $\alpha 5 \beta 1$ integriinin vuorovaikutuksen on postuloitu edistävän syöpäsolun selviytymistä pitkän uinumisen aikana (Korah et al., 2004). Coll:n määrä on suurimmillaan luun tuntumassa luuytimen kudostyypissä; fibronectiinin levittäytyessä puolestaan koko luuytimen alueelle (Nilsson et al., 1998). ECM komponenttien lisäksi, myös näiden aiheuttama kudoksen jäykkyys vaihtelee luuytimen sisällä. Esimerkiksi Coll määrän kasvu nostaa kudoksen elastisuus kerrointa (engl. elastic - tai Young's modulus) merkittävästi (Leiva et al., 2018) ja lisäksi luukudoksen mineralisaatio tekee siitä erityisen kovan (Kenkre & Bassett, 2018). Luun mekaaniset ominaisuudet voivat itsessään edistää syöpäsolujen aktivaatiota ja luumetastaasien muodostusta. Esimerkiksi erityisen aggressiivisen osteotrooppisen MDA-MB-231 rintasyöpäsolulinjan on osoitettu tehostavan PTHrP:n tuottoaan vasteena kasvualustansa elastisen kertoimen nostoon luuta muistuttavaksi. Vaikutuksen osoitettiin olevan Rho-riippuvaisen aktomyosiinin supistumisen säätelämä ja TGF- β signaaloinnin välittämä. Jäykkyys yksistään ei kuitenkaan riittänyt stimuloimaan PTHrP:n tuottoa rintasyöpäsolulinjoissa, jotka eivät tyypillisesti muodosta luuston etäpesäkkeitä (Ruppender et al., 2010). Watson et al. esittivät rintasyöpäsolujen aktivoivan Runx2:n ERK välitteisesti vasteena kokemansa kudostyypin jäykkyyteen, mutta palaavan hiljalleen normaalitilaan poistettaessa vasteen indusoineesta ympäristöstä. Koska syöpäsolujen esikäsittely jäykällä ympäristöllä edisti solujen kiinnittymistä synteettiseen luun matriksiin sekä osteolyyttisten luumetastaasien muodostumista *in vivo*, primaarikasvaimen ja toisaalta myös luuytimen kudostyypin jäykkyyden arveltiin edistävän uinuvien syöpäsolujen aktivoitumista etäpesäkkeen muodostukseen (Watson et al., 2019). ECM:n jäykkyyden nousu on myös liitetty EMT ohjelmien aktivoimiseen (Kai et al., 2019). Toisaalta jäykkyyserot luuytimen eri osien välillä voivat aiheuttaa haptotaktista liikkumista syöpäsoluissa (Kai et al., 2019) ja näin osallistua syöpäsolun kokeman mikroympäristön vaihtumisiin.

Kuten kappaleessa 3.2. mainittiin, hypoksia lienee yksi merkittävimmistä abioottisista tekijöistä kantasolulokeroissa. Hiljentyneiden HSC solujen on esitetty paikantuvan vähähappisille alueille luuytimessä, vaikkakin hypoksian rooli tai vaikutus ei ole täysin selvä (Pollard & Kranc, 2010). Hypoksian on osoitettu osallistuvan myös metastasointiin; vaikuttaen niin primaarikasvaimessa kuin sekundaarikasvaimenkin muodostumisessa (Rankin et al., 2016). Esimerkiksi Johnson et al. osoittivat LIFR/STAT3/SOCS3 signaaloinnin

vaikuttavan rintasyöpäsolujen uinumiseen luuytimessä (Johnson et al., 2016). LIFR/STAT3 signalointireitin estämisen rintasyöpäsoluissa esitettiin uudelleen aktivoivan solut uinuvasta tilastaan, sekä tehostavan luun hajotustoimintaa. LIFR:n estäminen liitettiin tämän lisäksi usean syöpäsolujen kantasoluominaisuuksiin yhdistetyn geenin vaimennukseen. LIFR/STAT3 signalointireittiä aktivoivat monet IL-6 sytokiiniperheeseen kuuluvat tekijät, kuten Leukemia Inhibitor Factor (LIF), jonka ilmentäminen on luuytimessä suurta. Tiettyä uinumista edistävää tekijää luuytimessä ei ole kuitenkaan LIFR signalointiin liittyen tunnistettu signalointireitin monimutkaisuuden sekä sopivien ligandien runsauden vuoksi. LIFR signalointia kuitenkin vaimennetaan vasteena hypoksiaan, joten luuytimen kudostympäristössä vallitseva happigradietti runsaasti verisuonitetun keskustan (engl. vascular niche) ja vähähappisemman endosteumin alueen (engl. endosteal niche) välillä vaikuttanee syöpäsolujen uinumisen ja aktivoitumisen säätelyyn (Sowder & Johnson, 2019).

Kuvassa 5. kootaan esille nousseista, ”lepo/aktivointi -kytkimenä” (engl. dormancy switch) toimivista tekijöistä muodostuneita teemoja.



Kuva 5. Rintasyöpäsolan uinumiseen ja uudelleen aktivoitumiseen vaikuttavat monet luuytimen kudospäristöperäiset tekijät. Lepokytin: Syöpäsolan uinumista tukevan lepokeron (engl. dormant niche) voidaan nähdä rakentuvan esimerkiksi muuttumattomista, selviytymistä tukevista solu-solu ja solu-ECM vuorovaikutussuhteista syöpäsolan ja tämän mikroympäristön välillä. Toisaalta uinumiseen ja kantasoluominaisuuksiin voi vaikuttaa myös kudospäristöstä irtautuminen (Ranganathan et al., 2020). Uinumistilan indusointi voi olla mikro-RNA välitteistä, joko ekstrasellulaaristen vesikkeleiden tai solujen välisten aukkoliitosten kautta. Valmiiden, verenkantasoluja ylläpitävien kantasolulokerojen on ehdotettu ylläpitävän myös syöpäsolujen uinumista ja kantasoluominaisuuksia, tai jopa

indusoivan niitä (Ghajar, 2015). Aktivointikytkin: Uinuvan syöpäsolun uudelleen aktivoinnin on esitetty johtuvan muutoksesta tähän vaikuttavassa kudossympäristössä. Esimerkiksi luun normaalin uudelleenmuovaustoiminnan, verisuonten uudismuodostuksen sekä stroomasolujen vanhenemisen on ehdotettu muuttavan luuytimen kudossympäristöä metastasoinnille suotuisaksi. Toisaalta huomioiden syöpäsolujen liikkumiskyvyn, voi ”maisemanvaihdoksen” takana olla myös kemo- tai haptotaktinen migraatio luuytimen kudossympäristön sisällä. Muuntuneen kantasolulokeron on esitetty johtavan tavallisten kantasolujen muuntumiseen niin kutsutuiksi kasvainta muodostaviksi syövän kantasoluiksi. Natiivien tai muuntuneiden verenkantasolulokerojen vaikutus voi kantasoluominaisuuksien ja/tai uinumisen ylläpidon lisäksi olla syöpäsoluja aktivoiva. Luuytimen kudossympäristön osien välinen hypoksia gradientti, sekä luun ja luuytimen mekaaniset ominaisuudet vaikuttanevat luumetastaasien muodostumiseen. Mikrometastaasina uinuvan syöpäsolun on aktivoitava myös verisuonten muodostus (angiogeeninen kytkin, engl. angiogenic switch) kasvaakseen makrometastaaseiksi (Nishida et al., 2006). Erityishuomioon on nostettu monien ECM-liittännäisten proteiinien (muun muassa TSP-1, OPN, BSP, ON ja Tenascin-C, ks. esim. katsausartikkeli Trotter & Yang, 2016) rooli uinumisen ja uudelleen aktivoitumisen säätelyssä. Myös TGF- β superperheen proteiinien (TGF- β ja BMP) on esitetty toimivan EMP:hen – ja näin myös erilaistumisstatuksen ja uinumisen säätelyyn – vaikuttavina tekijöinä. Kaiken keskiössä voidaan siis nähdä metastaasia muodostavan syöpäsolun muovautuvuus (engl. cellular plasticity) eri fenotyyppien (engl. phenotypic plasticity) ja toisaalta myös toiminnaltaan eriävien muotojen (engl. functional plasticity) välillä⁹. Syöpäsolun kantasoluominaisuudet (ja todennäköisesti myös ”helpoimmat” kohteet uinumisen tai uudelleen aktivoinnin säätelyyn) lienevät rajoittuneet (engl. stemness window) epiteeli ja mesenkyymi ominaisuuksia omaavien välimuotojen (Em ja Me tai E/M) välille EMP spektrillä (Celià-Terrassa & Kang, 2016; Devaraj & Bose, 2020; Pastushenko & Blanpain, 2019; Sinha et al., 2020; Yuan et al., 2019). Edellä mainittujen (stabiilien) välimuotojen on esitetty olevan myös tuumorinmuodostus- (Em, osittainen MET suunnassa M/Me/”hybridi” → Em tai osittainen EMT välillä E → Em) ja invaasiokyvyiltään (Me tai osittainen EMT suunnassa E/Em/”hybridi” → Me) muita muotoja korkeammalla (Celià-Terrassa & Kang, 2016; Pastushenko & Blanpain, 2019). Etäpesäkkeen kehittyminen edellyttäneen (emokasvaimensa tavoin) ominaisuuksiltaan

⁹ EMP- tai yleistäen solun polaarisuuden -, erilaistumisstatuksen - (engl. polarization plasticity, unicellular EMT, epithelial-hybrid-mesenchymal plasticity, EHMP, epithelial-mesenchymal-ameboidal plasticity, EMAP tai plasticity of cellular state) (Chakraborty et al., 2020; Devaraj & Bose, 2019; Emad et al., 2020; Hamidi & Sheng, 2018; Huang, Y. L. et al., 2015; Lorentzen et al., 2018; Ranganathan et al., 2020; Sinha et al., 2020; Taddei et al., 2014) tai (syövän)(kanta)solujen muovautuvuus (engl. [cancer] [stem] cell plasticity) (Avots et al., 2002; Eisenberg & Eisenberg, 2003; Huang, Z. et al., 2015) -ohjelmia aktivoimalla.

heterogeenisen, dynaamisen syöpäsolupopulaation muodostumista ja yhteistoimintaa (Chaffer et al., 2016; Hirata, 1996, Marjanovic et al., 2013). Epigeneettiset muutokset (tai yleisesti geenien säätelyverkosto, engl. gene regulatory network) ajavat tätä transkriptionaalista muovautuvuuskykyä (engl. transcriptional plasticity ja/tai permissive stem cell -like epigenome) (Avots et al., 2002; Quail et al., 2012; Sinha et al., 2020; Tam & Weinberg, 2013; Yuan et al., 2019). Lisäksi ainakin osalla syöpäsoluista lienee molekulaarisia muistoja (engl. molecular memory ja/tai hysteresis) alkuperäisestä kudostympäristöstään (TME) ja/tai EMP prosessin varrelta, jonka on esitetty edistävän niin etäpesäkkeen, kuin metastasointia tukevan kudostympäristönkin muodostumista (Celià-Terrassa et al., 2018; Stylianou et al., 2018). E: ”täysin” epiteliaalinen syöpäsolu tai ”täysi” MET, Em: osittain mesenkymaalinen-pääosin epiteliaalinen syöpäsolu, osittainen MET (engl. partial MET) tai osittainen EMT (engl. partial EMT), M: ”täysin” mesenkymaalinen syöpäsolu tai ”täysi” EMT, Me: osittain epiteliaalinen-pääosin mesenkymaalinen syöpäsolu tai osittainen EMT.

4. Lopuksi

Vaikkakin Pagetin ”Seed and soil” -hypoteesi etäpesäkkeiden muodostumisesta (Paget 1889) nähtiin pitkään toissijaisena tekijänä (Fidler 2003), on teoria nykytutkimuksen tukemana noussut kunniapaikalle metastasointia tutkivien parissa; alkuperäisen vertauskuvan keräten siteerauksia vielä tänäkin päivänä. Syöpäsolujen ja näihin vaikuttavan kudosympäristön välillä käytävän vuoropuhelun merkitys on todistettu merkittäväksi niin primaarikasvaimen, kuin etäpesäkkeidenkin kehitymisessä. Aluetta ja vuorovaikutuksia, jotka muovautuvat syöpäsolujen ja kohdekudoksen yhteistoiminnasta etäpesäkkeen muodostuessa kutsutaan usein metastaattiseksi lokeroksi; viitaten ekologiasta tuttuun eliön ja tämän elinympäristön väliseen vuorovaikutussuhteeseen, ekolokiseen lokeroon. Metastaattinen lokero toimii niin fyysisenä kiinnittymispaikkana syöpäsoluille kuin turvapaikkana edistäen näiden kasvua suojaamalla immuunipuolustukselta ja tarjoamalla proliferaatiota tukevia signaaleja. Lisäksi kumottavaa uinumista tukeva kudosympäristö suojaa syöpäsolua nopeasti jakautuviin soluihin kohdistetuilta kemoterapioilta, mutta toisaalta myös ylläpitänee tai indusoi syöpäsolun kantasoluominaisuuksia (Celià-Terrassa & Kang, 2018; Ghajar, 2015).

Luuytimen kudosympäristön voidaan nähdä toimivan merkittävänä säätelijänä niin rintasyöpäsolujen uinumisen indusoinnissa kuin uinuvien rintasyöpäsolujen kytkemisessä aktiivisiksi, etäpesäkkeitä muodostaviksi soluiksi. Monien tekijöiden on osoitettu säätelevän syöpäsolujen uinumistilaa solu-solu ja solu-ECM vuorovaikutuksiin kohdistuvia muutoksia indusoimalla (Mayhew et al., 2019). Luuytimen kudosympäristön solupopulaation ja näitä ympäröivän soluväliaineen lisäksi monet ECM-liitännäiset proteiinit (engl. ECM-affiliated - tai associated proteins, myös matricellular proteins) ovat osoittautuneet merkittäviksi tekijöiksi luumetastaasien muodostumisessa (Trotter & Yang, 2016). Myös luuytimessä vallitsevien hypoksisten olosuhteiden uskotaan vaikuttavan syöpäsolujen uinumiseen (Mayhew et al., 2019). Lisäksi yhtäläisyydet veren kantasoluihin ja luustoetäpesäkkeitä muodostaviin syöpäsoluihin vaikuttavissa vuorovaikutussuhteissa puoltaa mahdollisuutta syöpäsolujen kilpailemisesta natiiveista kantasolulokeroista luuytimessä (Forest et al., 2013; Mayhew et al., 2019). Arias et al. esittävät katsausartikkelissaan vertauksen käen pesimisstrategiasta kasvaimen muodostumiselle (Arias et al., 2012), joka luumetastaasien osalta yhteen vetää mahdollisen pesäloisena olon lisäksi ainakin luumimikoinnin ja (alkion)kantasolun piirteiden omaksumisen¹⁰, pesän valmistelun (esivalmis metastaattinen

¹⁰ Pyrkien näin ilmaistuna huomioimaan yleisen *kantasolumaisuuden* (Clevers, 2016) lisäksi verisoonimikoinnin (Arias et al., 2005; Ping & Bian, 2011) sekä perisyyttimikoinnin (Er et al., 2018) ja muut monilinjaiseen erilaistumiseen (engl. trans-differentiation) viittaavat ominaisuudet (kanta)solujen

lokero) merkityksen emokasvaimesta irronneiden syöpäsolujen selviytymisen turvaamiseksi ja toisaalta myös pesästä lähtemisen; syöpäsolujen lopulta levitessä luuytimestä muihin kudoksiin.

Etäpesäkkeen muodostuksen alkuvaiheiden sekä uinumisen tutkimista – ja siispä myös näihin kohdistuvien hoitomuotojen kehittämistä – on rajoittanut pitkään sopivien mallien löytäminen laboratorio-oloihin. Joukko erilaisia *in vitro* ja *in vivo* malleja (Bhatia et al., 2020; Montagner & Sahai, 2020; Simmons et al., 2015) on kuitenkin jo nyt käytössä, vaikkakin tarve uusille menetelmille säilynee vielä pitkälle tulevaisuuteen. Mikäli uinuviin syöpäsoluihin vaikuttavissa lääkkeissä tulisi keskittyä lepotilan pitkittämiseen, uinuvien syöpäsolujen tuhoamiseen vai näiden ”sytyttämiseen”¹¹ olemassa olevien kemoterapioiden vaikutuksen parantamiseksi, on kiistanalainen kysymys (Ghajar, 2015; Sosa et al., 2014). Esille on nostettu myös esimerkiksi mahdollisten karsinoomasolujen fenotyypin muovautuvuuteen tai erilaistumisstatukseen vaikuttavien lääkkeiden potentiaali levinneen syövän hoidossa (Pattabiraman & Weinberg, 2016). Kasvaimen mikroympäristöön suunnattuja lääkkeitä on jo kehitetty moniin eri syöpätyyppeihin, vaikkakin nämä kohdistuvat pääasiasiallisesti vain angiogeneesiin (Bissell & Hines, 2011). Lisäksi muutamia TIC/CSC soluja säätelevään kudosympäristöön (syövän kantasolulokero, engl. cancer stem cell niche) kohdentuvia hoitoja on parhaillaan testattavana kliinisissä lääketutkimuksissa (Yang, L. et al., 2020).

Siispä Pagetin ilmaisua lainaten; ”syöpätutkimuksen kyntömiesten” havainnoille peltomaan laadusta löytynee käyttöä jatkossakinⁱⁱ (Fidler 2003; Paget 1889).

muovautuvuuteen (engl. [stem] cell plasticity) (Avots et al., 2002; Eisenberg & Eisenberg, 2003; Huang, Z. et al., 2015) ja/tai mahdollisiin syövän alkusolun (engl. cell-of-origin of cancer) ominaisuuksiin (Afify & Seno, 2019; Ratajczak et al., 2009; Rycaj & Tang, 2015) viitaten.

¹¹ Lainattu ilmaisu, ks. Saarinen, E. (2020). ”Ajattelun ajattelun ajattelu” [Video]. YouTube. <https://youtu.be/w-Oj4gWehek>

Kirjallisuus

- Adams, G. B., Chabner, K. T., Alley, I. R., Olson, D. P., Szczepiorkowski, Z. M., Poznansky, M. C., . . . Scadden, D. T. (2006). Stem cell engraftment at the endosteal niche is specified by the calcium-sensing receptor. *Nature*, 439(7076), 599-603. doi:10.1038/nature04247
- Afify, S. M., & Seno, M. (2019). Conversion of stem cells to cancer stem cells: Undercurrent of cancer initiation. *Cancers*, 11(3) doi:10.3390/cancers11030345
- Aguirre-Ghiso, J. A. (2007). Models, mechanisms and clinical evidence for cancer dormancy. *Nature Reviews. Cancer*, 7(11), 834-846. doi:10.1038/nrc2256
- Akhtari, M., Mansuri, J., Newman, K. A., Guise, T. M., & Seth, P. (2008). Biology of breast cancer bone metastasis. *Cancer Biology & Therapy*, 7(1), 3-9.
- Allgayer, H., & Aguirre-Ghiso, J. A. (2008). The urokinase receptor (u-PAR)--a link between tumor cell dormancy and minimal residual disease in bone marrow? *APMIS: Acta Pathologica, Microbiologica, Et Immunologica Scandinavica*, 116(7-8), 602-614. doi:10.1111/j.1600-0463.2008.00997.x
- Allocca, G., Hughes, R., Wang, N., Brown, H. K., Ottewell, P. D., Brown, N. J., & Holen, I. (2019). The bone metastasis niche in breast cancer-potential overlap with the haematopoietic stem cell niche in vivo. *Journal of Bone Oncology*, 17, 100244. doi:10.1016/j.jbo.2019.100244
- Amin MB, Edge S, Greene F, Byrd DR, Brookland RK, Washington MK, Gershenwald JE, Compton CC, Hess KR, et al. (Eds.). (2017). *AJCC Cancer Staging Manual* (8th edition). Springer International Publishing.
- Arias, J., Aller, M., & Arias, J. (2005). The use of inflammation by tumor cells. *Cancer*, 104(2), 223-228. doi:10.1002/cncr.21165
- Arias, J., Aller, M., Prieto, I., Arias, A., de Julian, Z., Yang, H., & Arias, J. (2012). The amazing power of cancer cells to recapitulate extraembryonic functions: The cuckoo's tricks. *Journal of Oncology*, 2012 doi:10.1155/2012/521284

- Avots, A., Harder, F., Schmittwolf, C., Petrovic, S., & Müller, A. M. (2002). Plasticity of hematopoietic stem cells and cellular memory. *Immunological Reviews*, 187(1), 9-21. doi:10.1034/j.1600-065X.2002.18702.x
- Bacelli, I., & Trumpp, A. (2012). The evolving concept of cancer and metastasis stem cells. *The Journal of Cell Biology*, 198(3), 281-293. doi:10.1083/jcb.201202014
- Barkan, D., Green, J. E., & Chambers, A. F. (2010). Extracellular matrix: A gatekeeper in the transition from dormancy to metastatic growth. *European Journal of Cancer (Oxford, England : 1990)*, 46(7), 1181-1188. doi:10.1016/j.ejca.2010.02.027
- Baschuk, N., Rautela, J., & Parker, B. S. (2015). Bone specific immunity and its impact on metastasis. *BoneKEY Reports*, 4, 665. doi:10.1038/bonekey.2015.32
- Beerman, I., Luis, T. C., Singbrant, S., Lo Celso, C., & Méndez-Ferrer, S. (2017). The evolving view of the hematopoietic stem cell niche. *Experimental Hematology*, 50, 22-26. doi:10.1016/j.exphem.2017.01.008
- Bertucci, F., Ng, C. K. Y., Patsouris, A., Droin, N., Piscuoglio, S., Carbuccia, N., . . . André, F. (2019). Genomic characterization of metastatic breast cancers. *Nature (London)*, 569(7757), 560-564. doi:10.1038/s41586-019-1056-z
- Bhatia, S., Wang, P., Toh, A., & Thompson, E. W. (2020). New insights into the role of phenotypic plasticity and EMT in driving cancer progression. *Frontiers in Molecular Biosciences*, 7 doi:10.3389/fmolb.2020.00071
- Bianco, P. (2011). Bone and the hematopoietic niche: A tale of two stem cells. *Blood*, 117(20), 5281-5288. doi:10.1182/blood-2011-01-315069
- Bissell, M. J., & Hines, W. C. (2011). Why don't we get more cancer? A proposed role of the microenvironment in restraining cancer progression. *Nature Medicine*, 17(3), 320-329. doi:10.1038/nm.2328
- Blake, M. L., Tometsko, M., Miller, R., Jones, J. C., & Dougall, W. C. (2014). RANK expression on breast cancer cells promotes skeletal metastasis. *Clinical & Experimental Metastasis*, 31(2), 233-245. doi:10.1007/s10585-013-9624-3

- Blocki, A., Beyer, S., Jung, F., & Raghunath, M. (2018). The controversial origin of pericytes during angiogenesis – implications for cell-based therapeutic angiogenesis and cell-based therapies. *Clinical Hemorheology and Microcirculation*, 69(1-2), 215-232. doi:10.3233/CH-189132
- Boyerinas, B., Zafrir, M., Yesilkanal, A. E., Price, T. T., Hyjek, E. M., & Sipkins, D. A. (2013). Adhesion to osteopontin in the bone marrow niche regulates lymphoblastic leukemia cell dormancy. *Blood*, 121(24), 4821–4831. <https://doi.org/10.1182/blood-2012-12-475483>
- Brabletz, T. (2012a). EMT and MET in metastasis: Where are the cancer stem cells? *Cancer Cell*, 22(6), 699-701. doi:10.1016/j.ccr.2012.11.009
- Brabletz, T. (2012b). To differentiate or not--routes towards metastasis. *Nature Reviews. Cancer*, 12(6), 425-436. doi:10.1038/nrc3265
- Brabletz, T., Jung, A., Spaderna, S., Hlubek, F., & Kirchner, T. (2005). Opinion: Migrating cancer stem cells - an integrated concept of malignant tumour progression. *Nature Reviews. Cancer*, 5(9), 744-749. doi:10.1038/nrc1694
- Brook, N., Brook, E., Dharmarajan, A., Dass, C. R., & Chan, A. (2018). Breast cancer bone metastases: Pathogenesis and therapeutic targets. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 96, 63-78. doi:10.1016/j.biocel.2018.01.003
- Broxmeyer, H. E., Orschell, C. M., Clapp, D. W., Hangoc, G., Cooper, S., Plett, P. A., . . . Srour, E. F. (2005). Rapid mobilization of murine and human hematopoietic stem and progenitor cells with AMD3100, a CXCR4 antagonist. *The Journal of Experimental Medicine*, 201(8), 1307-1318. doi:10.1084/jem.20041385
- Buijs, J. T., & van der Pluijm, G. (2009). Osteotropic cancers: From primary tumor to bone. *Cancer Letters*, 273(2), 177-193. doi:10.1016/j.canlet.2008.05.044
- Bussard, K. M., Gay, C. V., & Mastro, A. M. (2008). The bone microenvironment in metastasis; what is special about bone? *Cancer Metastasis Reviews*, 27(1), 41-55. doi:10.1007/s10555-007-9109-4

- Byrne, N. M., Summers, M. A., & McDonald, M. M. (2019). Tumor cell dormancy and reactivation in bone: Skeletal biology and therapeutic opportunities. *JBMR Plus*, 3(3), e10125. doi:10.1002/jbm4.10125
- Celià-Terrassa, T., Bastian, C., Liu, D. D., Ell, B., Aiello, N. M., Wei, Y., . . . Kang, Y. (2018). Hysteresis control of epithelial-mesenchymal transition dynamics conveys a distinct program with enhanced metastatic ability. *Nature Communications*, 9(1), 1-12. doi:10.1038/s41467-018-07538-7
- Celià-Terrassa, T., & Kang, Y. (2016). Distinctive properties of metastasis-initiating cells. *Genes & Development*, 30(8), 892-908. doi:10.1101/gad.277681.116
- Celià-Terrassa, T., & Kang, Y. (2018). Metastatic niche functions and therapeutic opportunities. *Nature Cell Biology*, 20(8), 868-877. doi:10.1038/s41556-018-0145-9
- Chaffer, C.L., San Juan, B.P., Lim, E. et al. (2016). EMT, cell plasticity and metastasis. *Cancer Metastasis Rev*, 35, 645–654. doi:10.1007/s10555-016-9648-7
- Chakraborty, P., George, J. T., Tripathi, S., Levine, H., & Jolly, M. K. (2020). Comparative study of transcriptomics-based scoring metrics for the epithelial-hybrid-mesenchymal spectrum. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 8 doi:10.3389/fbioe.2020.00220
- Chen, X., Dusevich, V., Feng, J. Q., Manolagas, S. C., & Jilka, R. L. (2007). Extracellular matrix made by bone marrow cells facilitates expansion of marrow-derived mesenchymal progenitor cells and prevents their differentiation into osteoblasts. *Journal of Bone and Mineral Research: The Official Journal of the American Society for Bone and Mineral Research*, 22(12), 1943-1956. doi:10.1359/jbmr.070725
- Chen, X., Shi, X., Liu, Y. et al. (2020). Remodelling of the bone marrow microenvironment by stromal hyaluronan modulates the malignancy of breast cancer cells. *Cell Commun Signal* 18, 89. doi: 10.1186/s12964-020-00592-z
- Cherny, N. I., Paluch-Shimon, S., & Berner-Wygoda, Y. (2018). Palliative care: Needs of advanced breast cancer patients. *Breast Cancer Targets and Therapy*, 10, 231-243. doi:10.2147/bctt.s160462

- Chiarugi, P., & Giannoni, E. (2008). Anoikis: A necessary death program for anchorage-dependent cells. *Biochemical Pharmacology*, 76(11), 1352-1364.
doi:10.1016/j.bcp.2008.07.023
- Clevers, H. (2016). Cancer therapy: Defining stemness. *Nature*, 534(7606), 176-177.
doi:10.1038/534176a
- Coleman, R., Body, J. J., Aapro, M., Hadji, P., & Herrstedt, J. (2014). Bone health in cancer patients: ESMO clinical practice guidelines. *Annals of Oncology*, 25, iii124-iii137.
doi:10.1093/annonc/mdu103
- Coppé, J., Desprez, P., Krtolica, A., & Campisi, J. (2010). The senescence-associated secretory phenotype: The dark side of tumor suppression. *Annual Review of Pathology*, 5, 99-118. doi:10.1146/annurev-pathol-121808-102144
- Coussens, L. M., & Werb, Z. (2002). Inflammation and cancer. *Nature*, 420(6917), 860-867.
doi:10.1038/nature01322
- Cox, T. R., Gartland, A., & Erler, J. T. (2012). The pre-metastatic niche: Is metastasis random? *BoneKEy Reports*, 1(5), 80. doi:10.1038/bonekey.2012.80
- Cox, T. R., Rumney, R. M. H., Schoof, E. M., Perryman, L., Hoye, A. M., Agrawal, A., . . . Erler, J. T. (2015). The hypoxic cancer secretome induces pre-metastatic bone lesions through lysyl oxidase. *Nature*, 522(7544), 106. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4961239/>
- Croucher, P. I., McDonald, M. M., & Martin, T. J. (2016). Bone metastasis: The importance of the neighbourhood. *Nature Reviews. Cancer*, 16(6), 373-386.
doi:10.1038/nrc.2016.44
- Cyrus M Ghajar. (2015). Metastasis prevention by targeting the dormant niche. *Nature Reviews. Cancer*, 15(4), 238-247. doi:10.1038/nrc3910
- Dai, X., Li, T., Bai, Z., Yang, Y., Liu, X., Zhan, J., & Shi, B. (2015). Breast cancer intrinsic subtype classification, clinical use and future trends. *American Journal of Cancer Research*, 5(10), 2929-2943. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4656721/>

- Devaraj, V., & Bose, B. (2019). Morphological state transition dynamics in EGF-induced epithelial to mesenchymal transition. *Journal of Clinical Medicine*, 8(7) doi:10.3390/jcm8070911
- Devaraj, V. & Bose, B. (2020). The Mathematics of Phenotypic State Transition: Paths and Potential. *J Indian Inst Sci*, 100, 451–464. doi: 10.1007/s41745-020-00173-6
- Dougall, W. C., Holen, I., & González Suárez, E. (2014). Targeting RANKL in metastasis. *BoneKEY Reports*, 3, 519. doi:10.1038/bonekey.2014.14
- Edwards, J. R., Williams, K., Kindblom, L. G., Meis-Kindblom, J. M., Hogendoorn, P. C. W., Hughes, D., . . . Athanasou, N. A. (2008). Lymphatics and bone. *Human Pathology*, 39(1), 49-55. doi:10.1016/j.humpath.2007.04.022
- Eisenberg, L. M., & Eisenberg, C. A. (2003). Stem cell plasticity, cell fusion, and transdifferentiation. *Birth Defects Research. Part C, Embryo Today: Reviews*, 69(3), 209-218. doi:10.1002/bdrc.10017
- Emad, A., Ray, T., Jensen, T. W., Parat, M., Natrajan, R., Sinha, S., & Ray, P. S. (2020). Superior breast cancer metastasis risk stratification using an epithelial-mesenchymal-amoeboid transition gene signature. *Breast Cancer Research : BCR*, 22 doi:10.1186/s13058-020-01304-8
- Er, E. E., Valiente, M., Ganesh, K., Zou, Y., Agrawal, S., Hu, J., . . . Massagué, J. (2018). Pericyte-like spreading by disseminated cancer cells activates YAP and MRTF for metastatic colonization. *Nature Cell Biology*, 20(8), 966-978. doi:10.1038/s41556-018-0138-8
- Eriksen, E. F. (2010). Cellular mechanisms of bone remodeling. *Reviews in Endocrine & Metabolic Disorders*, 11(4), 219-227. doi:10.1007/s11154-010-9153-1
- Esposito, M., Guise, T., & Kang, Y. (2018). The biology of bone metastasis. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, 8(6) doi:10.1101/cshperspect.a031252
- Esposito, M., & Kang, Y. (2014). Targeting tumor-stromal interactions in bone metastasis. *Pharmacology & Therapeutics*, 141(2), 222-233. doi:10.1016/j.pharmthera.2013.10.006

- Esposito, M., Mondal, N., Greco, T. M., Wei, Y., Spadazzi, C., Lin, S., . . . Kang, Y. (2019). Bone vascular niche E-selectin induces mesenchymal-epithelial transition and wnt activation in cancer cells to promote bone metastasis. *Nature Cell Biology*, doi:10.1038/s41556-019-0309-2
- Farr, J. N., & Khosla, S. (2019). Cellular senescence in bone. *Bone*, 121, 121-133. doi:10.1016/j.bone.2019.01.015
- Fidler I. J. (2003). The pathogenesis of cancer metastasis: the 'seed and soil' hypothesis revisited. *Nature reviews. Cancer*, 3(6), 453–458. doi: 10.1038/nrc1098
- Forest, A. E., Shiozawa, Y., Pienta, K. J., & Taichman, R. S. (2013). *The hematopoietic stem cell niche and bone metastasis* Landes Bioscience. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK169225/>
- Frantz, C., Stewart, K. M., & Weaver, V. M. (2010). The extracellular matrix at a glance. *Journal of Cell Science*, 123(Pt 24), 4195-4200. doi:10.1242/jcs.023820
- Gao, D., & Mittal, V. (2012). Tumor microenvironment regulates epithelial – mesenchymal transitions in metastasis. *Expert Review of Anticancer Therapy*, 12(7), 857-859. doi:10.1586/era.12.69
- Gao, Y., Bado, I., Wang, H., Zhang, W., Rosen, J. M., & Zhang, X. H. -. (2019). Metastasis organotropism: Redefining the congenial soil. *Developmental Cell*, 49(3), 375-391. doi:10.1016/j.devcel.2019.04.012
- Ghajar, C. M., Peinado, H., Mori, H., Matei, I. R., Evason, K. J., Brazier, H., . . . Bissell, M. J. (2013). The perivascular niche regulates breast tumor dormancy. *Nature Cell Biology*, 15(7), 807-817. doi:10.1038/ncb2767
- Chanmee, T., Ontong, P., Kimata, K., & Itano, N. (2015). Key Roles of Hyaluronan and Its CD44 Receptor in the Stemness and Survival of Cancer Stem Cells. *Frontiers in oncology*, 5, 180. doi: 10.3389/fonc.2015.00180
- Ghosh, J., & Kapur, R. (2017). Role of mTORC1-S6K1 signaling pathway in regulation of hematopoietic stem cell and acute myeloid leukemia. *Experimental Hematology*, 50, 13-21. doi:10.1016/j.exphem.2017.02.004

- Giancotti, F. (2013). Mechanisms governing metastatic dormancy and reactivation. *Cell*, 155(4), 750-764. doi:10.1016/j.cell.2013.10.029
- Gomis, R. R., & Gawrzak, S. (2017). Tumor cell dormancy. *Molecular Oncology*, 11(1), 62-78. doi:10.1016/j.molonc.2016.09.009
- Guezguez, B., Campbell, C. J. V., Boyd, A. L., Karanu, F., Casado, F. L., Di Cresce, C., . . . Bhatia, M. (2013). Regional localization within the bone marrow influences the functional capacity of human HSCs. *Cell Stem Cell*, 13(2), 175-189. doi:10.1016/j.stem.2013.06.015
- Haider, M., Smit, D. J., & Taipaleenmäki, H. (2020). The endosteal niche in breast cancer bone metastasis. *Frontiers in Oncology*, 10, 335. doi:10.3389/fonc.2020.00335
- Hamidi, S., & Sheng, G. (2018). Epithelial-mesenchymal transition in haematopoietic stem cell development and homeostasis. *Journal of Biochemistry*, 164(4), 265-275. doi:10.1093/jb/mvy063
- Handle, F., Erb, H. H. H., Luef, B., Hoefer, J., Dietrich, D., Parson, W., Kristiansen, G., Santer, F. R. & Culig, Z. (2016). SOCS3 Modulates the Response to Enzalutamide and Is Regulated by Androgen Receptor Signaling and CpG Methylation in Prostate Cancer Cells. *Molecular Cancer Research*, 14(6), 574-585. doi: 10.1158/1541-7786.MCR-15-0495
- Haylock, D. N., & Nilsson, S. K. (2005). Stem cell regulation by the hematopoietic stem cell niche. *Cell Cycle (Georgetown, Tex.)*, 4(10), 1353-1355. doi:10.4161/cc.4.10.2056
- Heikenwalder, M. & Lorentzen, A. (2019). The role of polarisation of circulating tumour cells in cancer metastasis. *Cell. Mol. Life Sci*, 76, 3765–3781. doi: 10.1007/s00018-019-03169-3
- Hensel, J., & Thalmann, G. N. (2016). Biology of bone metastases in prostate cancer. *Urology*, 92, 6-13. doi:10.1016/j.urology.2015.12.039
- Hira, V. V. V., Van Noorden, C. J. F., Carraway, H. E., Maciejewski, J. P., & Molenaar, R. J. (2017). Novel therapeutic strategies to target leukemic cells that hijack

- compartmentalized continuous hematopoietic stem cell niches. *BBA - Reviews on Cancer*, 1868(1), 183-198. doi:10.1016/j.bbcan.2017.03.010
- Hirata, Y. (1996). Two types of cancer cells and cytotoxic therapies. *Medical Hypotheses*, 46(1), 30-32. doi:10.1016/s0306-9877(96)90232-7
- Hiremath, M., Wysolmerski, J. (2014). Role of PTHrP in Mammary Gland Development and Breast Cancer. *Clinic Rev Bone Miner Metab* 12, 178–189. <https://doi.org/10.1007/s12018-014-9170-9>
- Ho, Y., & Méndez-Ferrer, S. (2020). Microenvironmental contributions to hematopoietic stem cell aging. *Haematologica*, 105(1), 38-46. doi:10.3324/haematol.2018.211334
- Huang, Y. L., Tung, C., Zheng, A., Kim, B. J., & Wu, M. (2015). Interstitial flows promote an amoeboid over mesenchymal motility of breast cancer cells revealed by a three dimensional microfluidic model. *Integrative Biology : Quantitative Biosciences from Nano to Macro*, 7(11), 1402-1411. doi:10.1039/c5ib00115c
- Huang, Z., Wu, T., Liu, A. Y., & Ouyang, G. (2015). Differentiation and transdifferentiation potentials of cancer stem cells. *Oncotarget*, 6(37), 39550-39563. doi:10.18632/oncotarget.6098
- Infante, M., Fabi, A., Cognetti, F., Gorini, S., Caprio, M., & Fabbri, A. (2019). RANKL/RANK/OPG system beyond bone remodeling: Involvement in breast cancer and clinical perspectives. *Journal of Experimental & Clinical Cancer Research : CR*, 38 doi:10.1186/s13046-018-1001-2
- Johnson, R. W., Fingers, E. C., Olcina, M. M., Vilalta, M., Aguilera, T., Miao, Y., . . . Giaccia, A. J. (2016). Induction of LIFR confers a dormancy phenotype in breast cancer cells disseminated to the bone marrow. *Nature Cell Biology*, 18(10), 1078-1089. doi:10.1038/ncb3408
- Jolly, M. K., Ware, K. E., Gilja, S., Somarelli, J. A., & Levine, H. (2017). EMT and MET: Necessary or permissive for metastasis? *Molecular Oncology*, 11(7), 755-769. doi:10.1002/1878-0261.12083

- Joyce, J. A., & Pollard, J. W. (2009). Microenvironmental regulation of metastasis. *Nature Reviews. Cancer*, 9(4), 239-252. doi:10.1038/nrc2618
- Kai, F., Drain, A. P., & Weaver, V. M. (2019). The extracellular matrix modulates the metastatic journey. *Developmental Cell*, 49(3), 332-346. doi:10.1016/j.devcel.2019.03.026
- Kang, Y., Siegel, P. M., Shu, W., Drobnjak, M., Kakonen, S. M., Cordon-Cardo, C., . . . Massagué, J. (2003). A multigenic program mediating breast cancer metastasis to bone. *Cancer Cell*, 3(6), 537-549. doi:10.1016/S1535-6108(03)00132-6
- Kaplan, R. N., Psaila, B., & Lyden, D. (2006). Bone marrow cells in the 'pre-metastatic niche': Within bone and beyond. *Cancer Metastasis Reviews*, 25(4), 521-529. doi:10.1007/s10555-006-9036-9
- Kaplan, R. N., Riba, R. D., Zacharoulis, S., Bramley, A. H., Vincent, L., Costa, C., . . . Lyden, D. (2005). VEGFR1-positive haematopoietic bone marrow progenitors initiate the pre-metastatic niche. *Nature*, 438(7069), 820-827. doi:10.1038/nature04186
- Karantanas A.H., Panicek D.M. (2009) Disorders of Bone Marrow. In: Hodler J., Zollikofer C.L., Von Schulthess G.K. (eds) Musculoskeletal Diseases 2009–2012. Springer, Milano. https://doi.org/10.1007/978-88-470-1378-0_13
- Kenkre, J. S., & Bassett, J. (2018). The bone remodelling cycle. *Annals of Clinical Biochemistry*, 55(3), 308-327. doi:10.1177/0004563218759371
- Kennecke, H., Yerushalmi, R., Woods, R., Cheang, M. C. U., Voduc, D., Speers, C. H., . . . Gelmon, K. (2010). Metastatic behavior of breast cancer subtypes. *Journal of Clinical Oncology*, 28(20), 3271-3277. doi:10.1200/JCO.2009.25.9820
- Kim, K., Marquez-Palencia, M., & Malladi, S. (2019). Metastatic latency, a veiled threat. *Frontiers in Immunology*, 10 doi:10.3389/fimmu.2019.01836
- King, A., Balaji, S., Keswani, S. G., & Crombleholme, T. M. (2014). The role of stem cells in wound angiogenesis. *Advances in Wound Care*, 3(10), 614-625. doi:10.1089/wound.2013.0497

- Klamer, S., & Voermans, C. (2014). The role of novel and known extracellular matrix and adhesion molecules in the homeostatic and regenerative bone marrow microenvironment. *Cell Adhesion & Migration*, 8(6), 563-577.
doi:10.4161/19336918.2014.968501
- Kolb, A. D., Shupp, A. B., Mukhopadhyay, D., Marini, F. C., & Bussard, K. M. (2019). Osteoblasts are "educated" by crosstalk with metastatic breast cancer cells in the bone tumor microenvironment. *Breast Cancer Research: BCR*, 21(1), 31.
doi:10.1186/s13058-019-1117-0
- Kontomanolis, E. N., Kalagasidou, S., Pouliliou, S., Anthoulaki, X., Georgiou, N., Papamanolis, V., & Fasoulakis, Z. N. (2018). The notch pathway in breast cancer progression. *The Scientific World Journal*, 2018 doi:10.1155/2018/2415489
- Korah, R., Boots, M., & Wieder, R. (2004). Integrin alpha5beta1 promotes survival of growth-arrested breast cancer cells: An in vitro paradigm for breast cancer dormancy in bone marrow. *Cancer Research*, 64(13), 4514-4522. doi:10.1158/0008-5472.CAN-03-3853
- Kunisaki, Y., Bruns, I., Scheiermann, C., Ahmed, J., Pinho, S., Zhang, D., . . . Frenette, P. S. (2013). Arteriolar niches maintain haematopoietic stem cell quiescence. *Nature*, 502(7473), 637-643. doi:10.1038/nature12612
- Lambert, A. W., Pattabiraman, D. R., & Weinberg, R. A. (2017). Emerging biological principles of metastasis. *Cell*, 168(4), 670-691. doi:10.1016/j.cell.2016.11.037
- Lampreia, F. P., Carmelo, J. G., & Anjos-Afonso, F. (2017). Notch signaling in the regulation of hematopoietic stem cell. *Current Stem Cell Reports*, 3(3), 202-209.
doi:10.1007/s40778-017-0090-8
- Lawson, M. A., McDonald, M. M., Kovacic, N., Hua Khoo, W., Terry, R. L., Down, J., . . . Croucher, P. I. (2015). Osteoclasts control reactivation of dormant myeloma cells by remodelling the endosteal niche. *Nature Communications*, 6(1), 8983.
doi:10.1038/ncomms9983

- Lazzari, E., & Butler, J. M. (2018). The instructive role of the bone marrow niche in aging and leukemia. *Current Stem Cell Reports*, 4(4), 291-298. doi:10.1007/s40778-018-0143-7
- Leiva, O., Leon, C., Ng, S. K., Mangin, P., Gachet, C., & Ravid, K. (2018). The role of extracellular matrix stiffness in megakaryocyte development and function. *American Journal of Hematology*, 93(3), 430-441. doi:10.1002/ajh.25008
- Lester, R. D., Jo, M., Montel, V., Takimoto, S., & Gonias, S. L. (2007). uPAR induces epithelial-mesenchymal transition in hypoxic breast cancer cells. *The Journal of Cell Biology*, 178(3), 425-436. doi:10.1083/jcb.200701092
- Lorentzen, A., Becker, P. F., Kosla, J., Saini, M., Weidele, K., Ronchi, P., . . . Heikenwalder, M. (2018). Single cell polarity in liquid phase facilitates tumour metastasis. *Nature Communications*, 9(1), 887. doi:10.1038/s41467-018-03139-6
- Lu, W., & Kang, Y. (2019). Epithelial-mesenchymal plasticity in cancer progression and metastasis. *Developmental Cell*, 49(3), 361-374. doi:10.1016/j.devcel.2019.04.010
- Lu, X., Mu, E., Wei, Y., Riethdorf, S., Yang, Q., Yuan, M., . . . Kang, Y. (2011). VCAM-1 promotes osteolytic expansion of indolent bone micrometastasis of breast cancer by engaging $\alpha 4 \beta 1$ -positive osteoclast progenitors. *Cancer Cell*, 20(6), 701-714. doi:10.1016/j.ccr.2011.11.002
- Luo, M., Brooke, M., & Wicha, M. S. (2015). Epithelial-mesenchymal plasticity of breast cancer stem cells: Implications for metastasis and therapeutic resistance. *Current Pharmaceutical Design*, 21(10), 1301-1310. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4498673/>
- Luo, X., Fu, Y., Loza, A., Murali, B., Leahy, K., Ruhland, M., . . . Stewart, S. (2016). Stromal-initiated changes in the bone promote metastatic niche development. *Cell Reports*, 14(1), 82-92. doi:10.1016/j.celrep.2015.12.016
- Maes, C. (2013). Role and regulation of vascularization processes in endochondral bones. *Calcified Tissue International*, 92(4), 307-323. doi:10.1007/s00223-012-9689-z

- Malanchi, I., Santamaria-Martínez, A., Susanto, E., Peng, H., Lehr, H., Delaloye, J., & Huelsken, J. (2011). Interactions between cancer stem cells and their niche govern metastatic colonization. *Nature*, *481*(7379), 85-89. doi:10.1038/nature10694
- Malladi, S., Macalinao, D. G., Jin, X., He, L., Basnet, H., Zou, Y., . . . Massagué, J. (2016). Metastatic latency and immune evasion through autocrine inhibition of WNT. *Cell*, *165*(1), 45-60. doi:10.1016/j.cell.2016.02.025
- Margheri, F., Luciani, C., Taddei, M. L., Giannoni, E., Laurenzana, A., Biagioni, A., . . . Del Rosso, M. (2014). The receptor for urokinase-plasminogen activator (uPAR) controls plasticity of cancer cell movement in mesenchymal and amoeboid migration style. *Oncotarget*, *5*(6), 1538-1553. doi:10.18632/oncotarget.1754
- Marjanovic, N. D., Weinberg, R. A., & Chaffer, C. L. (2013). Cell plasticity and heterogeneity in cancer. *Clinical chemistry*, *59*(1), 168–179. doi: 10.1373/clinchem.2012.184655
- Mathiesen, R. R., Borgen, E., Renolen, A., Løkkevik, E., Nesland, J. M., Anker, G., . . . Naume, B. (2012). Persistence of disseminated tumor cells after neoadjuvant treatment for locally advanced breast cancer predicts poor survival. *Breast Cancer Research: BCR*, *14*(4), R117. doi:10.1186/bcr3242
- Matic, I., Matthews, B. G., Wang, X., Dymment, N. A., Worthley, D. L., Rowe, D. W., . . . Kalajzic, I. (2016). Quiescent bone lining cells are a major source of osteoblasts during adulthood. *Stem Cells (Dayton, Ohio)*, *34*(12), 2930-2942. doi:10.1002/stem.2474
- Mayhew, V., Omokehinde, T., & Johnson, R. W. (2019). Tumor dormancy in bone. *Cancer Reports*, *0*(0), e1156. doi:10.1002/cnr2.1156
- Misra, S., Heldin, P., Hascall, V. C., Karamanos, N. K., Skandalis, S. S., Markwald, R. R., & Ghatak, S. (2011). Hyaluronan–CD44 interactions as potential targets for cancer therapy. *The FEBS Journal*, *278*(9), 1429-1443. doi:10.1111/j.1742-4658.2011.08071.x
- Moll, N. M., & Ransohoff, R. M. (2010). CXCL12 and CXCR4 in bone marrow physiology. *Expert Review of Hematology*, *3*(3), 315-322. doi:10.1586/ehm.10.16
- Montagner, M., & Sahai, E. (2020). In vitro models of breast cancer metastatic dormancy. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, *8* doi:10.3389/fcell.2020.00037

- Moustakas, A., & Heldin, P. (2014). TGF β and matrix-regulated epithelial to mesenchymal transition. *Biochimica Et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects*, 1840(8), 2621-2634. doi:10.1016/j.bbagen.2014.02.004
- Mukherjee, D., & Zhao, J. (2013). The role of chemokine receptor CXCR4 in breast cancer metastasis. *American Journal of Cancer Research*, 3(1), 46. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23359227>
- Mundy, G. R., & Guise, T. A. (1997). Hypercalcemia of malignancy. *The American Journal of Medicine*, 103(2), 134-145. doi:10.1016/s0002-9343(97)80047-2
- Nagasawa, T., Omatsu, Y., & Sugiyama, T. (2011). Control of hematopoietic stem cells by the bone marrow stromal niche: The role of reticular cells. *Trends in Immunology*, 32(7), 315-320. doi:10.1016/j.it.2011.03.009
- Nilsson, S. K., Debatis, M. E., Dooner, M. S., Madri, J. A., Quesenberry, P. J., & Becker, P. S. (1998). Immunofluorescence characterization of key extracellular matrix proteins in murine bone marrow in situ. *The Journal of Histochemistry and Cytochemistry: Official Journal of the Histochemistry Society*, 46(3), 371-377. doi:10.1177/002215549804600311
- Nishida, N., Yano, H., Nishida, T., Kamura, T., & Kojiro, M. (2006). Angiogenesis in cancer. *Vascular Health and Risk Management*, 2(3), 213-219. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1993983/>
- Nobre, A., Risson, E., Singh, D. K., Di Martino, J. S., Cheung, J. F., Wang, J., Johnson, J., Russnes, H. G., Bravo-Cordero, J. J., Birbrair, A., Naume, B., Azhar, M., Frenette, P. S. & Aguirre-Ghiso, J. A. (2020). NG2+/Nestin+ mesenchymal stem cells dictate DTC dormancy in the bone marrow through TGF β 2. bioRxiv 2020.10.22.349514. <https://doi.org/10.1101/2020.10.22.349514>
- Obenauf, A. C., & Massagué, J. (2015). Surviving at a distance: Organ specific metastasis. *Trends in Cancer*, 1(1), 76-91. doi:10.1016/j.trecan.2015.07.009
- Ono, M., Kosaka, N., Tominaga, N., Yoshioka, Y., Takeshita, F., Takahashi, R., . . . Ochiya, T. (2014). Exosomes from bone marrow mesenchymal stem cells contain a microRNA

- that promotes dormancy in metastatic breast cancer cells. *Science Signaling*, 7(332), ra63. doi:10.1126/scisignal.2005231
- Ottersbach, K. (2019). Endothelial-to-haematopoietic transition: An update on the process of making blood. *Biochemical Society Transactions*, 47(2), 591-601. doi:10.1042/bst20180320
- Paget, S. (1889). The distribution of secondary growths in cancer of the breast. *Lancet*, 1, 571–573. doi:10.1016/S0140-6736(00)49915-0
- Pang, X., Gong, K., Zhang, X., Wu, S., Cui, Y., & Qian, B. (2019). Osteopontin as a multifaceted driver of bone metastasis and drug resistance. *Pharmacological Research*, 144, 235-244. doi:10.1016/j.phrs.2019.04.030
- Pastushenko, I., & Blanpain, C. (2019). EMT transition states during tumor progression and metastasis. *Trends in Cell Biology*, 29(3), 212-226. doi:10.1016/j.tcb.2018.12.001
- Pattabiraman, D. R., & Weinberg, R. A. (2016). Targeting the epithelial-to-mesenchymal transition: The case for differentiation-based therapy. *Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology*, 81, 11-19. doi:10.1101/sqb.2016.81.030957
- Peinado, H., Zhang, H., Matei, I. R., Costa-Silva, B., Hoshino, A., Rodrigues, G., . . . Lyden, D. (2017). Pre-metastatic niches: Organ-specific homes for metastases. *Nature Reviews. Cancer*, 17(5), 302-317. doi:10.1038/nrc.2017.6
- Pfützner, B. M., Branstetter, D., Loibl, S., Denkert, C., Lederer, B., Schmitt, W. D., . . . von Minckwitz, G. (2014). RANK expression as a prognostic and predictive marker in breast cancer. *Breast Cancer Research and Treatment*, 145(2), 307-315. doi:10.1007/s10549-014-2955-1
- Ping, Y., & Bian, X. (2011). Concise review: Contribution of cancer stem cells to neovascularization. *Stem Cells*, 29(6), 888-894. doi:10.1002/stem.650
- Pio, G. M., Xia, Y., Piaseczny, M. M., Chu, J. E., & Allan, A. L. (2017). Soluble bone-derived osteopontin promotes migration and stem-like behavior of breast cancer cells. *PloS one*, 12(5), e0177640. doi:10.1371/journal.pone.0177640

- Pollard, P. J., & Kranc, K. R. (2010). Hypoxia signaling in hematopoietic stem cells: A double-edged sword. *Cell Stem Cell*, 7(3), 276-278. doi:10.1016/j.stem.2010.08.006
- Price, T. T., Burness, M. L., Sivan, A., Warner, M. J., Cheng, R., Lee, C. H., . . . Sipkins, D. A. (2016). Dormant breast cancer micrometastases reside in specific bone marrow niches that regulate their transit to and from bone. *Science Translational Medicine*, 8(340), 340ra73. doi:10.1126/scitranslmed.aad4059
- Quail, D. F., Taylor, M. J. & Postovit, L. (2012). Microenvironmental Regulation of Cancer Stem Cell Phenotypes, *Current Stem Cell Research & Therapy*, 7, 197. doi: 10.2174/157488812799859838
- Ranganathan, S., Kumar, S., Mohanty, S.S. et al. (2020). Cellular Plasticity in Matrix-attached and -Detached Cells: Implications in Metastasis. *J Indian Inst Sci*, 100, 525–536. doi: 10.1007/s41745-020-00179-0
- Rankin, E. B., Nam, J., & Giaccia, A. J. (2016). Hypoxia: Signaling the metastatic cascade. *Trends in Cancer*, 2(6), 295-304. doi:10.1016/j.trecan.2016.05.006
- Rao, S., Cronin, S. J. F., Sigl, V., & Penninger, J. M. (2018). RANKL and RANK: From mammalian physiology to cancer treatment. *Trends in Cell Biology*, 28(3), 213-223. doi:10.1016/j.tcb.2017.11.001
- Ratajczak, M. Z., Shin, D., & Kucia, M. (2009). Very small embryonic/epiblast-like stem cells. *The American Journal of Pathology*, 174(6), 1985-1992. doi:10.2353/ajpath.2009.081143
- Ren, G., Esposito, M., & Kang, Y. (2015). Bone metastasis and the metastatic niche. *Journal of Molecular Medicine (Berlin, Germany)*, 93(11), 1203-1212. doi:10.1007/s00109-015-1329-4
- Risson, E., Nobre, A. R., Maguer-Satta, V., & Aguirre-Ghiso, J. A. (2020). The current paradigm and challenges ahead for the dormancy of disseminated tumor cells. *Nature Cancer*, 1(7), 672-680. doi:10.1038/s43018-020-0088-5
- Roato, I., & Ferracini, R. (2018). Cancer stem cells, bone and tumor microenvironment: Key players in bone metastases. *Cancers*, 10(2) doi:10.3390/cancers10020056

- Roca, H., & McCauley, L. K. (2015). Inflammation and skeletal metastasis. *BoneKEY Reports*, 4, 706. doi:10.1038/bonekey.2015.75
- Rolli, M., Fransvea, E., Pilch, J., Saven, A., & Felding-Habermann, B. (2003). Activated integrin α_3 cooperates with metalloproteinase MMP-9 in regulating migration of metastatic breast cancer cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 100(16), 9482-9487. doi:10.1073/pnas.1633689100
- Rucci, N., Sanità, P., Delle Monache, S., Alesse, E., & Angelucci, A. (2014). Molecular pathogenesis of bone metastases in breast cancer: Proven and emerging therapeutic targets. *World Journal of Clinical Oncology*, 5(3), 335-347. doi:10.5306/wjco.v5.i3.335
- Rucci, N., & Teti, A. (2018). Osteomimicry: How the seed grows in the soil. *Calcified Tissue International*, 102(2), 131-140. doi:10.1007/s00223-017-0365-1
- Ruppender, N. S., Merkel, A. R., Martin, T. J., Mundy, G. R., Sterling, J. A., & Guelcher, S. A. (2010). Matrix rigidity induces osteolytic gene expression of metastatic breast cancer cells. *Plos One*, 5(11), e15451. doi:10.1371/journal.pone.0015451
- Rycaj, K., & Tang, D. G. (2015). Cell-of-origin of cancer versus cancer stem cells: Assays and interpretations. *Cancer Research*, 75(19), 4003-4011. doi:10.1158/0008-5472.CAN-15-0798
- Sai, B., & Xiang, J. (2018). Disseminated tumour cells in bone marrow are the source of cancer relapse after therapy. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, 22(12), 5776-5786. doi:10.1111/jcmm.13867
- Sánchez-Aguilera, A., & Méndez-Ferrer, S. (2016). The hematopoietic stem-cell niche in health and leukemia. *Cellular and Molecular Life Sciences : CMLS*, 74(4), 579-590. doi:10.1007/s00018-016-2306-y
- Sänger, N., Effenberger, K. E., Riethdorf, S., Van Haasteren, V., Gauwerky, J., Wiegatz, I., . . . Pantel, K. (2011). Disseminated tumor cells in the bone marrow of patients with ductal carcinoma in situ. *International Journal of Cancer*, 129(10), 2522-2526. doi:10.1002/ijc.25895

- Sambi M., Qorri B., Harless W., Szewczuk M.R. (2019) Therapeutic Options for Metastatic Breast Cancer. In: Ahmad A. (eds) Breast Cancer Metastasis and Drug Resistance. Advances in Experimental Medicine and Biology, vol 1152. Springer, Cham. doi: 10.1007/978-3-030-20301-6_8
- Schneider, J. G., Amend, S. H., & Weilbaecher, K. N. (2011). Integrins and bone metastasis: Integrating tumor cell and stromal cell interactions. *Bone*, 48(1), 54-65. doi:10.1016/j.bone.2010.09.016
- Schofield, R. (1978). The relationship between the spleen colony-forming cell and the haemopoietic stem cell. *Blood Cells*, 4(1-2), 7-25.
- Sethi, N., Dai, X., Winter, C. G., & Kang, Y. (2011). Tumor-derived Jagged1 promotes osteolytic bone metastasis of breast cancer by engaging notch signaling in bone cells. *Cancer Cell*, 19(2), 192-205. doi:10.1016/j.ccr.2010.12.022
- Sevenich, L., & Joyce, J. A. (2014). Pericellular proteolysis in cancer. *Genes & Development*, 28(21), 2331-2347. doi:10.1101/gad.250647.114
- Shiozawa, Y., Pedersen, E. A., Havens, A. M., Jung, Y., Mishra, A., Joseph, J., . . . Taichman, R. S. (2011). Human prostate cancer metastases target the hematopoietic stem cell niche to establish footholds in mouse bone marrow. *The Journal of Clinical Investigation*, 121(4), 1298-1312. doi:10.1172/JCI43414
- Siegel, R. L., Miller, K. D., & Jemal, A. (2020). Cancer statistics, 2020. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 70(1), 7-30. doi:10.3322/caac.21590
- Sihto, H., Lundin, J., Lundin, M., Lehtimäki, T., Ristimäki, A., Holli, K., . . . Joensuu, H. (2011). *Breast cancer biological subtypes and protein expression predict for the preferential distant metastasis sites: A nationwide cohort study*. England: BioMed Central Ltd. doi:10.1186/bcr2944
- Simmons, J. K., Hildreth, B. E., Supsavhad, W., Elshafae, S. M., Hassan, B. B., Dirksen, W. P., . . . Rosol, T. J. (2015). Animal models of bone metastasis. *Veterinary Pathology*, 52(5), 827-841. doi:10.1177/0300985815586223

- Sinder, B. P., Pettit, A. R., & McCauley, L. K. (2015). Macrophages: Their emerging roles in bone. *Journal of Bone and Mineral Research : The Official Journal of the American Society for Bone and Mineral Research*, 30(12), 2140-2149. doi:10.1002/jbmr.2735
- Sinha, S., Jones, B. M., Traniello, I. M., Bukhari, S. A., Halfon, M. S., Hofmann, H. A., . . . Robinson, G. E. (2020). Behavior-related gene regulatory networks: A new level of organization in the brain. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 117(38), 23270-23279.
- Sosa, M. S., Bragado, P., & Aguirre-Ghiso, J. A. (2014). Mechanisms of disseminated cancer cell dormancy: An awakening field. *Nature Reviews. Cancer*, 14(9), 611-622. doi:10.1038/nrc3793
- Sowder, M. E., & Johnson, R. W. (2019). Bone as a preferential site for metastasis. *JBMR Plus*, 3(3), e10126. doi:10.1002/jbm4.10126
- Stern, R. (2008). Association between cancer and "acid mucopolysaccharides": An old concept comes of age, finally. *Seminars in Cancer Biology*, 18(4), 238-243. doi:10.1016/j.semcancer.2008.03.014
- Stylianou, N., Lehman, M. L., Wang, C., Fard, A. T., Rockstroh, A., Fazli, L., . . . Hollier, B. G. (2018). A molecular portrait of epithelial–mesenchymal plasticity in prostate cancer associated with clinical outcome. *Oncogene*, 38(7), 913-934. doi:10.1038/s41388-018-0488-5
- Suomen Syöpärekisteri, <https://tilastot.syoparekisteri.fi/syovat>, datan päiväys 02.04.2020, sovelluksen versio 2020-06-12-001
- Suva, L. J., Griffin, R. J., & Makhoul, I. (2009). Mechanisms of bone metastases of breast cancer. *Endocrine-Related Cancer*, 16(3), 703-713. doi:10.1677/ERC-09-0012
- Taddei, M., Giannoni, E., Morandi, A., Ippolito, L., Ramazzotti, M., Callari, M., . . . Chiarugi, P. (2014). Mesenchymal to amoeboid transition is associated with stem-like features of melanoma cells. *Cell Communication and Signaling*, 12(1), 24. doi:10.1186/1478-811x-12-24

- Tam, W. L., & Weinberg, R. A. (2013). The epigenetics of epithelial-mesenchymal plasticity in cancer. *Nature Medicine*, 19(11), 1438-1449. doi:10.1038/nm.3336
- Tan, C., Li, G., Tan, L., Du, X., Li, X., He, R., . . . Feng, Y. (2016). Breast cancer cells obtain an osteomimetic feature via epithelial-mesenchymal transition that have undergone BMP2/RUNX2 signaling pathway induction. *Oncotarget*, 7(48), 79688-79705. doi:10.18632/oncotarget.12939
- Teicher, B. A., & Fricker, S. P. (2010). CXCL12 (SDF-1)/CXCR4 pathway in cancer. *Clinical Cancer Research: An Official Journal of the American Association for Cancer Research*, 16(11), 2927-2931. doi:10.1158/1078-0432.CCR-09-2329
- Terzi, M. Y., Izmirlı, M., & Gogebakan, B. (2016). The cell fate: Senescence or quiescence. *Molecular Biology Reports*, 43(11), 1213-1220. doi:10.1007/s11033-016-4065-0
- Tiwari, N., Gheldof, A., Tatari, M., & Christofori, G. (2012). EMT as the ultimate survival mechanism of cancer cells. *Seminars in Cancer Biology*, 22(3), 194-207. doi:10.1016/j.semcancer.2012.02.013
- Tjensvoll, K., Oltedal, S., Heikkilä, R., Kvaløy, J. T., Gilje, B., Reuben, J. M., . . . Nordgård, O. (2012). Persistent tumor cells in bone marrow of non-metastatic breast cancer patients after primary surgery are associated with inferior outcome. *BMC Cancer*, 12(1), 190. doi:10.1186/1471-2407-12-190
- Trotter, T. N., & Yang, Y. (2016). Matricellular proteins as regulators of cancer metastasis to bone. *Matrix Biology : Journal of the International Society for Matrix Biology*, 52-54, 301-314. doi:10.1016/j.matbio.2016.01.006
- Trounson, A. (2004). Stem cells, plasticity and cancer - uncomfortable bed fellows. *Development (Cambridge, England)*, 131(12), 2763-2768. doi:10.1242/dev.01233
- Tsubaki, M., Komai, M., Fujimoto, S., Itoh, T., Imano, M., Sakamoto, K., . . . Nishida, S. (2013). Activation of NF-κB by the RANKL/RANK system up-regulates snail and twist expressions and induces epithelial-to-mesenchymal transition in mammary tumor cell lines. *Journal of Experimental & Clinical Cancer Research: CR*, 32, 62. doi:10.1186/1756-9966-32-62

- van der Pluijm, G. (2011). Epithelial plasticity, cancer stem cells and bone metastasis formation. *Bone*, 48(1), 37-43. doi:10.1016/j.bone.2010.07.023
- Visvader, J. E., & Lindeman, G. J. (2008). Cancer stem cells in solid tumours: Accumulating evidence and unresolved questions. *Nature Reviews. Cancer*, 8(10), 755-768. doi:10.1038/nrc2499
- Walker, N. D., Patel, J., Munoz, J. L., Hu, M., Guiro, K., Sinha, G., & Rameshwar, P. (2016). The bone marrow niche in support of breast cancer dormancy. *Cancer Letters*, 380(1), 263-271. doi:10.1016/j.canlet.2015.10.033
- Wang, H., Yu, C., Gao, X., Welte, T., Muscarella, A. M., Tian, L., . . . Zhang, X. H. -. (2015). The osteogenic niche promotes early-stage bone colonization of disseminated breast cancer cells. *Cancer Cell*, 27(2), 193-210. doi:10.1016/j.ccell.2014.11.017
- Watson, A. W., Grant, A., Parker, S. S., Harman, M. W., Roman, M. R., Forte, B. L., Gowan, C. C., Castro-Portuguez, R., Franck, C., Cusanovich, D., Padi, M., Romanoski, C. & Mouneimne, G. (2019). Breast tumor stiffness instructs bone metastasis via mechanical memory. bioRxiv 847699. <https://doi.org/10.1101/847699>
- Wei, S., & Siegal, G. P. (2017). Metastatic organotropism: An intrinsic property of breast cancer molecular subtypes. *Advances in Anatomic Pathology*, 24(2), 78-81. doi:10.1097/PAP.0000000000000140
- Weichhaus, M., Chung, S. T. M., & Connelly, L. (2015). Osteoprotegerin in breast cancer: Beyond bone remodeling. *Molecular Cancer*, 14 doi:10.1186/s12943-015-0390-5
- Weidenfeld, K., & Barkan, D. (2018). EMT and stemness in tumor dormancy and outgrowth: Are they intertwined processes? *Frontiers in Oncology*, 8, 381. doi:10.3389/fonc.2018.00381
- Xiong, J., & O'Brien, C. A. (2012). Osteocyte RANKL: New insights into the control of bone remodeling. *Journal of Bone and Mineral Research : The Official Journal of the American Society for Bone and Mineral Research*, 27(3), 499-505. doi:10.1002/jbmr.1547

- Yang, L., Shi, P., Zhao, G., Xu, J., Peng, W., Zhang, J., . . . Cui, H. (2020). Targeting cancer stem cell pathways for cancer therapy. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, 5(1), 1-35. doi:10.1038/s41392-020-0110-5
- Yang, X., Liang, X., Zheng, M., & Tang, Y. (2018). Cellular phenotype plasticity in cancer dormancy and metastasis. *Frontiers in Oncology*, 8 doi:10.3389/fonc.2018.00505
- Yuan, S., Norgard, R. J., & Stanger, B. Z. (2019). Cellular plasticity in cancer. *Cancer Discovery*, 9(7), 837-851.
- Zabkiewicz, C., Resaul, J., Hargest, R., Jiang, W. G., & Ye, L. (2017). Bone morphogenetic proteins, breast cancer, and bone metastases: Striking the right balance. *Endocrine-Related Cancer*, 24(10), R349-R366. doi:10.1530/ERC-17-0139
- Zarrer, J., Haider, M., Smit, D. J., & Taipaleenmäki, H. (2020). Pathological crosstalk between metastatic breast cancer cells and the bone microenvironment. *Biomolecules*, 10(2) doi:10.3390/biom10020337
- Zhang, W., Bado, I., Wang, H., Lo, H., & Zhang, X. H. -. (2019). Bone metastasis: Find your niche and fit in. *Trends in Cancer*, 5(2), 95-110. doi:10.1016/j.trecan.2018.12.004
- Zhang, X. H. -, Jin, X., Malladi, S., Zou, Y., Wen, Y. H., Brogi, E., . . . Massagué, J. (2013). Selection of bone metastasis seeds by mesenchymal signals in the primary tumor stroma. *Cell*, 154(5), 1060-1073. doi:10.1016/j.cell.2013.07.036
- Zhang, X. H. -, Wang, Q., Gerald, W., Hudis, C. A., Norton, L., Smid, M., . . . Massagué, J. (2009). Latent bone metastasis in breast cancer tied to src-dependent survival signals. *Cancer Cell*, 16(1), 67-78. doi:10.1016/j.ccr.2009.05.017
- Zhao, M., Tao, F., Venkatraman, A., Li, Z., Smith, S. E., Unruh, J., . . . Li, L. (2019). N-cadherin-expressing bone and marrow stromal progenitor cells maintain reserve hematopoietic stem cells. *Cell Reports*, 26(3), 652-669.e6. doi:10.1016/j.celrep.2018.12.093
- Zhao, Y., Bachelier, R., Treilleux, I., Pujuguet, P., Peyruchaud, O., Baron, R., . . . Clézardin, P. (2007). Tumor alphavbeta3 integrin is a therapeutic target for breast cancer bone

metastases. *Cancer Research*, 67(12), 5821-5830. doi:10.1158/0008-5472.CAN-06-4499

Zheng, H., Bae, Y., Kasimir-Bauer, S., Tang, R., Chen, J., Ren, G., . . . Kang, Y. (2017). Therapeutic antibody targeting tumor- and osteoblastic niche-derived Jagged1 sensitizes bone metastasis to chemotherapy. *Cancer Cell*, 32(6), 731-747.e6. doi:10.1016/j.ccell.2017.11.002

Zöller, M. (2015). CD44, hyaluronan, the hematopoietic stem cell, and leukemia-initiating cells. *Frontiers in Immunology*, 6 doi:10.3389/fimmu.2015.00235

ⁱ Kirjoittajan oma käännös. Alkuperäinen sitaatti: “When a plant goes to seed, its seeds are carried in all directions; but they can only live and grow if they fall on congenial soil.” (Paget 1889).

ⁱⁱ Kirjoittajan oma muokaus. Alkuperäinen sitaatti: “The best work in the pathology of cancer now is done by those who, like Mr Balance and Mr Shattock, are studying the nature of the seed. They are like scientific botanists, and he who turns over the records of cases of cancer is only a ploughman, but his observations of the properties of the soil might also be useful.” (Paget 1889).